ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE : 15

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTIVITE IN VITRO D'UN ACIDE AMINE AMPHOTERE, DE LA CHLORHEXIDINE ET DE LA POLYVINYLPYRROLIDONE IODEE

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982

par

Jérôme, Norbert, Georges TERPIN

Né le 26 janvier 1956 à ROUEN (Seine-Maritime)

Membres du Jury

Président : ..... Madame ENJALBERT
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : ..... Monsieur LAUTIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur GENEVOIS
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV.
LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547625_0011

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE : 15

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTIVITE IN VITRO D'UN ACIDE AMINE AMPHOTERE, DE LA CHLORHEXIDINE ET DE LA POLYVINYLPYRROLIDONE IODEE

THESE

Pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982

par

Jérôme, Norbert, Georges TERPIN

Né le 26 janvier 1956 à ROUEN (Seine-Maritime)

Membres du Jury

Président : ..... Madame ENJALBERT
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : ..... Monsieur LAUTIE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur GENEVOIS
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : ..... M.LAUTIE
Directeur honoraire : ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires : ..... M. BRIZARD
..... M. SAURAT

PERSONNEL ENSEIGNANT
CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. GODFRAIN
Professeur sans chaire ..... Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire ..... M. RICO
Professeur sans chaire ..... M. BRAUN
Maître Assistant ..... M. BENARD

Physique Biologique et Médicale
Chimie Biologique et Médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire ..... M. PAVAUX
Maître Assistant ..... M. LIGNEREUX
Maître Assistant ..... M. SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie Appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire ..... M. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire ..... M. FARGEAS
Maître Assistant Agrégé ..... M. TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire ..... M. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire ..... M. CABANIE
Maître Assistant Agrégé ..... M. MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire ..... M. LABIE
Maître de Conférences ..... M. EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé ..... Mme BENARD

Hygiène - Inspection - Contrôle et Technologie des denrées alimentaires d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire ..... M. DORCHIES
Maître de Conférences ..... M. FRANC
Maître Assistant ..... M. DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Ecologie - Parasitologie externe -
Dermatologie - Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE
DES EQUIDES ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire ..... M. LESCURE
Maître de Conférences ..... M. GUELFI
Maître Assistant ..... M. REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL
ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire ..... M. TOURNUT
Maître de Conférences ..... M. BEZILLE
Maître Assistant ..... M. JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du bétail et des animaux de basse-cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire ..... M. CAZIEUX
Maître de Conférences ..... M. GENEVOIS
Maître-Assistant ..... M. AUTEFAGE

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale - Radiologie - Technique Chirurgicale - Anesthésiologie
Pathologie Chirurgicale - Clinique - Traumatologie - Podologie orthopédique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire ..... M. FERNEY
Professeur sans chaire ..... M. ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle - Sémiologie et Propédeutique - Pathologie de la
Reproduction - Obstétrique et pathologie du nouveau-né - Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES -
LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire ..... M. CHANTAL
Maître Assistant ..... M. PICAVET

Epidémiologie - Maladies contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire ..... M. LAUTIE
Maître Assistant ..... M. PELLERIN

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE D'ELEVAGE ET ECONOMIE

Professeur titulaire ..... M. QUEINNEC
Professeur sans chaire ..... M. DARRE
Maître Assistant ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale - Extérieur - Zootechnie et Economie générales - Ethologie
appliquée, Sciences, Techniques, Economie de l'Elevage et des Productionsanimales
Insémination artificielle - Organisation de l'Elevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire ..... M. FALIU
Professeur sans chaire ..... M. GRIESS

Botanique appliquée et Bromatologie - Agronomie - Alimentation

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs : ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET, et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924).

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Madame le Professeur ENJALBERT

De l'Université Paul SABATIER

qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence du Jury
de notre thèse.

Hommages respectueux

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur LAUTIE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

qui a bien voulu nous conseiller dans notre travail.

Hommage respectueux.

Monsieur le Professeur GENEVOIS
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre grande estime.

A Jocelyne,

A ma Famille,

A mes Amis.

INTRODUCTION

La découverte de l'importance du monde bactérien en pathologie a nécessité des recherches constantes pour l'élaboration de produits de plus en plus efficaces dans la lutte contre les micro-organismes. Parmi les substances chimiques antibactériennes, on peut distinguer deux catégories :

- D'une part, les antibiotiques qui ont pris une place prépondérante dans la lutte anti-infectieuse. Ces substances, secrétées par des micro-organismes vivants ou produits de façon synthétique, agissent à dose faible à l'échelle moléculaire en interférant au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques de la bactérie d'où leur action spécifique sur la cellule bactérienne et souvent même sur une catégorie particulière de bactéries; elles respectent l'intégrité de l'organisme infecté et leur activité à dose faible permet leur emploi par voie interne, orale ou parentérale. Cependant leur utilisation massive provoque l'apparition de souches résistantes et c'est ainsi que, si le staphylocoque reste très fréquent dans les cas de surinfection, des germes considérés auparavant comme inoffensifs (bacille pyocyanique, Proteus, Enterobacter, Serratia) sont maintenant responsables d'une part non négligeable de la pathologie infectieuse.

- D'autre part, les antiseptiques: ils agissent de façon globale sur la cellule bactérienne par des processus physiques ou physico-chimiques et leur action peu spécifique peut ainsi toucher toutes les cellules des tissus infectés. Cependant les germes ne présentent pas tous la même sensibilité vis-à-vis des antiseptiques et il est intéressant dans le cadre de la lutte contre l'infection de connaître la sensibilité réelle de chaque micro-organisme vis-à-vis des antiseptiques couramment utilisés et partant de mieux les utiliser.

L'objet de ce travail sera donc, après une présentation générale des antiseptiques , de comparer l'activité de trois antiseptiques (un acide aminé amphotère, la chlorhexi-

dine et la polyvinylpyrrolidone iodée) sur une série de cinq germes obtenus dans les hôpitaux de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

PREMIERE PARTIE

GENERALITES SUR LES ANTISEPTIQUES

A) DEFINITIONS

1°) Désinfection - Antisepsie

La désinfection est une opération dont le résultat momentané permet l'élimination, la destruction ou l'inactivation dirigée des germes microbiens pathogènes dans le milieu extérieur, en altérant leur structure ou leur métabolisme indépendamment de leur état physiologique ; l'antisepsie est une opération au résultat momentané permettant l'élimination, la destruction ou l'inactivation des germes microbiens au niveau des tissus vivants dans la limite de leur tolérance (12), (94).

2°) Désinfectant - Antiseptique

"Un antiseptique est", selon Patterson (89), "une substance capable de s'opposer à l'action septique, à la putréfaction en prévenant ou en arrêtant la croissance ou l'action des micro-organismes, soit en inhibant leur activité, soit en les détruisant". Cette définition concerne essentiellement les substances utilisables sur les tissus vivants et réservées à l'usage local ou externe en thérapeutique individuelle. Les substances réservées à l'hygiène générale des locaux et des milieux inertes sont appelées désinfectants.

En fait, la classification d'un produit comme antiseptique ou désinfectant se fait volontiers sur la destination de ce produit car même si classiquement un désinfectant s'utilise sur les milieux inertes et un antiseptique sur les tissus vivants, il est fréquent qu'un désinfectant puisse être utilisé comme antiseptique quand il est suffisamment dilué.

3°) Bactériostase - Bactéricidie

Un antiseptique est bactériostatique lorsque son action réversible consiste en l'inhibition du pouvoir de multiplication du germe, l'élimination de la substance active permettant une nouvelle multiplication.

Un antiseptique est bactericide lorsque son action irréversible est caractérisée par la mort du germe, une subculture ne donnant lieu à aucun développement bactérien.

Un antiseptique peut présenter les deux formes d'action : cela dépend de sa concentration et pour une concentration donnée de l'état de la culture bactérienne, des conditions de développement de cette culture, du germe bactérien en cause et de la présence d'agents inhibiteurs tels que les protéines.

B) CLASSIFICATION DES ANTISEPTIQUES CHIMIQUES (10), (12), (25), (37), (41), (47), (91).

I) Les composés phénoliques

1°) Le phénol

Le phénol a été employé comme antiseptique par Lister avant l'ère pasteurienne et a longtemps servi d'antiseptique de référence pour comparer l'activité des divers antiseptiques (coefficient phénol). Il n'est plus guère employé en raison de son faible pouvoir antiseptique et de son action toxique et nécrosante.

Seuls les dérivés phénoliques et leurs homologues ont maintenant un intérêt en raison de leur meilleure activité et de leur moindre toxicité. Ces composés, actifs sur la plupart des germes bactériens et sur les champignons, sont inactifs sur les spores et les virus. Le caractère lipophile de ces composés explique leur bonne activtté sur les bactéries Gram négatives dont la paroi cellulaire est riche en lipides. Ils agissent en se combinant aux protéines et en les dénaturant. A des concentrations plus fortes ce sont des poisons protoplasmiques et des destructeurs de la paroi bactérienne. A des concentrations moindres, ils se fixent sur la paroi cellulaire et en modifient la perméabilité entraînant ainsi la fuite des acides nucléïques (25).

2°) Les homologues du phénol

Ces composés, naturels ou de synthése, se divisent en trois grands groupes chimiques : les alkypnénols, les chlorophénols et les halogénoalkyphénols, ces derniers composés étant les plus actifs. Parmi les plus importants de ces composés, nous trouvons :

- Le parachlorophénol, composé peu soluble, plus efficace et moins caustique que le phénol.

- L'acide picrique, composé bactéricide et légérement anesthésique.

- Les crésols : ce sont des alkylphénols dont l'activité est trois fois plus importante que celle du phénol sans être plus toxique. Leur action porte sur tous les germes bactériens. Parmi ces crésols se trouvent le tricrésol (abondant dans les charbons de houille), des dérivés chlorés (chlorocrésol et di-chlorocrésol) et le thymol beaucoup moins toxique et plus actif que le phénol, notamment sur les Gram + et sur les champignons.

- Les polyphénols : ces dérivés polyphénoliques du benzéne sont bien moins caustiques que le phénol. Parmi ces polyphénols se trouvent l'hexylrésorcinol (désinfection de l'atmosphére), le résorcinol, le gaïacol et la créosote.

- Les arylphénols : ces composés obtenus par l'aromatisation de la chaîne latérale du noyau phénol et l'halogénation de chaque noyau, possédent l'hexachlorophene pour représentant le plus connu. Ce composé, essentiellement bactériostatique, est très actif sur les Gram +. Insoluble dans l'eau, sa mise en solution dans d'autres solvants lui fait parfois perdre sa vitesse de réaction ou son activité. Généralement employé en solution alcoolique à 5 p. 100, il ne doit pas être utilisé sur la peau lésée ou sur les muqueuses en raison de sa haute toxicité.

II) Les agents tensio-actifs

Les agents tensio-actifs ou composés surfactifs sont des substances bipolaires, solubles dans l'eau et capables d'abaisser la tension superficielle. Utilisés sous forme de solution aqueuse ou alcoolique tant pour les usages ménagers qu'en désinfection courante, ces composés ne sont pas tous des antiseptiques car leurs propriétés antiseptiques ne sont pas dues au fait qu'ils possédent un groupe lipophile et un groupe hydrophile. Ces agents tensio-actifs se répartissent en quatre groupes :

- Les agents non ioniques, ne possédant aucune activité antiseptique.

- Les agents amphotères dont la partie hydrophile posséde une charge positive et une charge négative.

- Les agents anioniques dont le pôle hydrophile est chargé négativement et dont le pôle lipophile est constitué d'une chaîne carbonée. Leur activité antibactérienne est faible et s'exerce surtout sur les coques Gram +. Peu inhibés par les matières organiques, ils servent de détergent ou pour solubiliser les antiseptiques insolubles dans l'eau.

- Les agents cationiques dont le groupe hydrophile est constitué d'une fonction ammonium quaternaire chargée positivement et un pôle lipophile formé d'une chaîne carbonée. Ce sont des sels de bases fortes, peu irritants et peu toxiques, dont l'activité est liée à la longueur de la chaîne carbonée. L'activité antibactérienne serait due à divers mécanismes dont la dénaturation, par solubilisation et dépolymérisation, de protéines et d'enzymes nécessaires à la glycolyse et à la respiration. Ils peuvent de plus agir par cytolyse (secondaire à l'altération de la membrane cellulaire) et par arrêt de la synthése de protéines en se fixant aux ribosomes. Ces agents sont bactériostatiques aux concentrations habituellement utilisées et agissent surtout sur les Gram + et les champignons inférieurs. Ils sont inactifs sur les mycobactéries et sur les spores. Bactéricides à la concentration de 0,5 p. 100 sur la plupart des germes bactériens, la présence de 25 p. 100 de sérum multiplie par 50 la concentration minimale bactéricide (CMB).

Les principaux ammoniums quaternaires sont :

. Le chlorure de Benzalkonium, mélange de divers composés où dominent les radicaux en C_{12} (lauryl) et en C_{14} (myristyl) dans la chaîne carbonée.

. Le bromure de céthexonium, de cétrimonium et de dimethylbensyldodecyl ammonium.

Ces composés, peu irritants, sont largement utilisés pour la désinfection et le lavage des plaies, car leur caractère mouillant, détergent et kératolytique leur assure une bonne pénétration.

III) Les alcools

Les alcools, qui agissent essentiellement par dénaturation des protéines, possédent une bonne activité antiseptique. Ils sont plus actifs sur les Gram - que sur les Gram + et leur action sur les virus est très variable. Le pouvoir antiseptique des alcools aliphatiques est maximal quand la chaîne carbonée posséde de 5 à 8 atomes de carbone. C'est l'éthanol, cependant, (2 atomes de carbone) qui est l'alcool le plus employé pour la désinfection de la peau et des instruments chirurgicaux ; son action maximale est obtenue pour une concentration de 70 p. 100 de son poids en solution aqueuse. Les glycols, surtout le propylèneglycol et le triéthylène glycol sont utilisés en aérosols pour la désinfection de l'air où ils ont une activité bactéricide et virulicide satisfaisante.

IV) Les aldéhydes

Le plus connu des aldéhydes est le formol ou formaldéhyde qui est un excellent désinfectant à l'état gazeux et en solution. Il est actif sur toutes les espéces bactériennes, sur les formes sporulées (à très forte concentration et après un très long temps d'action) et sur la plupart des virus. Son activité bactéricide ne s'exerce qu'en présence d'eau, nécessaire à son action au niveau des radicaux aminés de la membrane bactérienne. Sa solution à 40 p. 100 est peu

employée en raison de son action irritante et toxique. Il est en général utilisé en solution à 10 p. 100 à partir de la solution du commerce (30 ou 40 p. 100). A cette concentration il sert de fixateur en histologie. C'est en fait, surtout un désinfectant comme son produit de condensation solide : le trioxyméthylène $(HCOH)_3$.

Combiné à l'ammoniaque, le formol donne l'hexamine (hexaméthyléne tétramine).

V) Les acides

Certains acides dont l'activité est due à la présence de l'ion hydronium libre (H_3O^+), sont utilisés comme antiseptiques et antifongiques.

C'est ainsi que l'on utilise l'acide acétique (bactéricide à 5 p. 100 sur la plupart des germes), les acides benzoïque, salicylique, et aliphatique pour leur pouvoir fongicide et l'acide borique pour son action bactériostatique.

VI) Salicylanides et carbanilides

Dans ce groupe les composés intéressants sont le trichlorocarbanilide et le tribromosalycinalide qui sont très actifs surtout sur les coques Gram + et les champignons.

VII) Les composés oxydants

Ces composés comprennent la soude, les halogénes (chlore, iode et leurs dérivés) et des désinfectants mineurs comme l'eau oxygénée, les peroxydes métalliques et les persels.

1°) La soude

La soude est active sur les Gram - (46) et sur les champignons. Remarquablement active sur le virus aphteux à 8 g par litre (15), sa forte causticité sur la peau et les muqueuses en limite l'emploi.

2°) L'iode

L'iode est un corps solide, peu soluble dans l'eau (0,33 g/l), plus soluble dans les solutions aqueuses d'iodure et dans les solvants organiques. Ce bactéricide puissant, largement employé pour la désinfection cutanée et la "stérilisation" des objets, agit à des concentrations quasiment identiques sur toutes les bactéries, les virus et les champignons. Son action, favorisée par un pH acide, permet de tuer la plupart des germes en moins de 10 secondes par la teinture d'iode. Il agit en détruisant les protéines structurales et les enzymes bactériennes. Cependant, son action caustique et les phénomènes d'intolérance qu'il peut provoquer en limitent l'emploi.

Les préparations les plus usuelles de l'iode sont :

. La teinture d'iode : soluté alcoolique officinal (5 p. 100 d'iode et 3 p. 100 d'iodure de sodium).

. L'alcool iodé : 1 à 2 p. 100 d'iode en solution dans de l'alcool à 60° ou 80°.

. Les solutés de Lugol dit iodo-ioduré fort et de Tarnier dit iodo-ioduré faible.

. La solution glycérinée à 2 p. 100.

3°) Les iodophores

Leur intérêt résulte surtout de la découverte de la polyvinylpyrrolidone iodée (P.V.P.I.) qui permet de conserver toutes les propriétés de l'iode sans en avoir les effets toxiques, irritants et sensibilisants.

4°) Les dérivés chlorés

- Les hypochlorites : on emploie les hypochlorites alcalins et alcalino-terreux (dont l'activité croît quand le pH baisse) et les composés organiques chlorés qui libèrent en solution de l'acide hypochloreux. Ces composés, toxiques en raison de leur teneur en chlore et leur alcalinité, sont dan-

gereux lors de leur absorption et de leur projection dans les yeux.

Le pouvoir antiseptique d'une solution d'hypochlorite est fonction du chlore actif qu'elle contient. Ce pouvoir est exprimé en degré chlorométrique (un degré chlorométrique correspond à la libération d'un litre de chlore en milieu acide par un litre de solution, un degré chlorométrique correspond à 3,22 g de chlore actif).

Les formes d'utilisation des hypochlorites sont :

. Le chlorure de chaux ou hypochlorite de calcium titrant plus de 90 degrés chlorométriques.

. L'hypochlorite de sodium :

- Extrait concentré : au moins 45 degrés chlorométriques.

- Soluté d'hypochlorite de sodium ou eau de Javel titrant entre 12 et 30 degrés chlorométriques.

- Solutés officinaux : Soluté de Dakin qui est de l'eau de Javel diluée (1,5 degré chlorométriques), neutralisée par du bicarbonate de sodium et colorée par du permanganate de potassium (0,01 p. 100).

Soluté de Labarraque.

Si les trois premiers composés sont utilisés comme désinfectants (notamment l'eau de Javel pour la destruction des bactéries dans l'eau de boisson), le soluté de Dakin est par contre utilisé pour le lavage des plaies et en irrigation ; cependant il se conserve mal et son activité est fortement diminuée en présence de matière organique.

- Les chloramines : Ce sont des composés organiques azotés comme la chloramine T, la dichloramine et l'azochloramine qui libérent de l'acide hypochloreux par hydrolyse. Leur effet, plus prolongé que celui des hypochlorites, les font utiliser pour la désinfection des eaux et en solution aqueuse diluée pour l'irrigation des plaies.

5°) Eau oxygénée et peroxydes

L'eau oxygénée (perhydrol 100 volumes, soluté officinal 10 volumes) a un pouvoir antiseptique faible se manifestant par le dégagement d'oxygéne sous l'effet de la catalase des tissus auquel s'ajoute un effet mécanique important car les bulles délitent les produits biologiques qui encombrent les plaies, notamment les spores.

Les peroxydes métalliques (peroxydes de sodium, de calcium ou de magnésium) et des persels comme le persulfate et le perborate de sodium sont utilisés comme l'eau oxygénée pour le nettoyage des plaies. Le permanganate de potassium ($KMnO_4$) est un persel actif surtout contre les Gram -, dont l'activité baisse fortement en présence de matière organique.

VIII Les dérivés des métaux lourds

1°) Les composés des métaux lourds

Ces composés sont des agents thioloprives agissant par blocage enzymatique parfois réversible. Il en résulte leurs propriétés bactériostatiques et leur toxicité pour les cellules hôtes.

Parmi ces composés se trouvent :

- Les dérivés minéraux : seul parmi ces dérivés, l'oxycyanure de mercure reste encore employé. Les autres composés, tels le bichlorure de mercure ou les sels insolubles comme l'oxyde jaune de mercure, ne sont plus guère utilisés car ils sont trop corrosifs et irritants.

- Les organomercuriels : dans ces composés, le mercure est directement lié à un atome de carbone et donc peu ionisable. Ces composés, plus actifs que les dérivés précédents, sont moins toxiques et moins irritants. Parmi ces dérivés se trouvent :

. Le mercurochrome ou mercurescéïne : c'est un sel disodique de dibromohydroxymercurifluorescéïne utilisé en solution aqueuse ou alcoolique à 2 p. 100, concentration

à laquelle il est bactériostatique ; il pénètre peu les tissus et son activité est fortement diminuée en présence de matière organique. Il favorise toutefois la cicatrisation et l'assèchement.

. Le merthiolate de sodium : c'est un sel de sodium de l'acide ethylmercurithiosalicylique, bactériostatique et fongistatique. Son sel d'éthanolamine est utilisé comme antiseptique cutéano-muqueux.

. Le métaphène : c'est un anhydre du nitrohydroxymercuri3orthocrésol, bactériostatique, peu irritant et peu corrosif.

. Le mercurobutol est surtout connu pour son association au laurylsulfate de sodium (Mercryl).

. Les sels de phenylmercure (nitrate, acétate et surtout borate (Merphène) passent pour être fortement bactériostatiques et fongistatiques.

2°) Les dérivés de l'argent

Les sels d'argent, auxquels on reconnaît des propriétés antiseptiques et astringentes, peuvent se diviser en deux groupes :

- Les solutions de sels ionisables qui agissent en précipitant les protéines bactériennes sous forme de protéinate d'argent, composé insoluble qui précipite immédiatement. Ce protéinate libère ensuite l'argent à l'état ionisé qui posséde une plus faible activité bactériostatique. Parmi ces solutions, c'est celle de nitrate d'argent, active surtout sur les coques Gram + et sur les Gram -, qui est la plus utilisée essentiellement sous forme de collyre à 1 p. 100, bien qu'elle soit fortement caustique et irritante.

- Les formes de préparations colloïdales de l'argent (argent colloïdale et dérivés colloïdaux argentiques) dans lesquelles l'argent est non ionisé, sont bactériostatiques, peu irritantes et non astringentes.

3°) Les composés zinciques

Les sels de zinc sont utilisés de façon limitée comme astringents et antiseptiques faibles. Les sulfates, l'oxyde, le peroxyde et le stéarate de zinc entrent dans la composition de collyres, de pommades et de poudres.

4°) Les composés cuivriques

Les sels de cuivre sont bactéricides et fongicides à faible concentration, mais ils sont astringents et irritants. Le sulfate de cuivre associé au sulfate de zinc entre dans la composition de l'eau de Dalibour et de la liqueur de Villate.

IX) Les colorants et les agents chélateurs

Diverses matières colorées sont douées du pouvoir antiseptique. La classification suivant leurs formules chimiques permet de distinguer :

- Les dérivés du triphénylméthane : les divers composés de groupe dans lequel se trouvent le vert malachite, le vert brillant, le cristal violet ou violet de gentiane, le bleu de méthylène, ont une action bactéricide ou bactériostatique selon la concentration utilisée. Ils sont actifs sur les Gram + et les champignons, mais leur activité est fortement diminuée en présence de matière protéique.

Ces colorants existent sous deux formes selon le pH : une forme cationique hydrosoluble et une forme pseudobasique non ionisée liposoluble, forme sous laquelle le colorant franchit la membrane cellulaire. Il inhibe alors la formation des micropeptides de la membrane bactérienne et la synthése de divers métabolites comme les précurseurs de la glutamine.

Notons enfin que ces colorants sont souvent utilisés dans les eaux d'aquariums ou pour traiter par bains les poissons et les autres animaux aquatiques.

- Les dérivés de l'acridine : ces composés, actifs à l'état d'ionisation cationique, agissent par fixation sur les acides nucléiques et par inhibition de l'ARN polymérase ; ce qui provoque des mutations aux faibles concentrations et un effet létal aux fortes. Parmi ces composés, les plus employés sont la proflavine et l'acriflavine (trypaflavine ou gonavine), poudre jaune soluble dans l'eau mais s'altérant rapidement à la lumière.

- Les dérivés de la 8-hydroxiquinoléïne : l'activité antiseptique de ces produits résulte de leur pouvoir chélateur vis-à-vis de métaux indispensables à la vie de certains micro-organismes. Les sulfates double et neutre d'orthoxyquinoléïne sont irritants à des concentrations supérieures à 2 p. 100. Le sulfate neutre d'hydroxyquinoléïne (oxyquinol), poudre jaune soluble dans l'eau, agit par chélation des ions ferriques. Son pouvoir antiseptique s'exerce surtout sur les Gram + et les champignons inférieurs. Les dérivés halogénés sont plus actifs car plus liposolubles, ils pénétrent mieux les bactéries.

X) Divers

1°) Les biguanides

A ce groupe chimique qui comporte des antipaludéens, appartient un antiseptique, la chlorhexidine, utilisée sous forme de sel soluble, le digluconate de chlorhexidine. Ce composé, soluble dans l'eau, posséde un large spectre d'activité comprenant les Gram +, les Gram - et les champignons. Son action bactéricide est peu affectée par la présence de matière organique.

2°) L'hexétine

C'est une hexahydropyrimidine possédant des propriétés antibactériennes, antifongiques et légèrement analgésiques.

3°) L'hexamidine

C'est un antiseptique actif surtout sur les coques

Gram + et sur les levures.

C) FACTEURS D'ACTIVITE ET PARAMETRES CARACTERISTIQUES D'UN AGENT CHIMIQUES DE DESINFECTION (22), (105).

Un antiseptique doit pouvoir agir dans les environnements les plus divers. Malheureusement la réponse d'une souche bactérienne à un agent chimique de désinfection est fortement influencée par le milieu environnant.

L'action d'un antiseptique peut se faire selon trois étapes :

- adsorption du composé sur la paroi ;
- pénétration dans le protoplasme avec ou sans lésion de la membrane cellulaire ;
- réaction avec une ou plusieurs cibles ou composants cellulaires.

C'est surtout au niveau des deux premières étapes que l'action de l'antiseptique peut être influencée.

1°) Les variations du pH

Les variations de pH agissent au niveau de la membrane cytoplasmique mais également sur l'activité propre de l'antiseptique.

Une augmentation de pH entraîne une augmentation des charges négatives à la surface des bactéries (100), favorisant l'attraction électrostatique des molécules chargées positivement. Par exemple un pH alcalin diminue l'action des dérivés chlorés et du phénol qui est dissocié en composés moins liposolubles. Il faut à pH 10 trois fois plus de phénol qu'à pH 7 pour obtenir la même action (12). De même l'acide hypochloreux, peu dissocié à pH 5 (0,3 p. 100), l'est beaucoup plus à pH 9 (91 p. 100) (41).

A l'inverse, une augmentation de pH favorise l'action des dérivés de l'acridine et des ammoniums quaternaires

en augmentant leur ionisation. Le chlorure de benzalkonium est trois fois plus actif à pH 9 qu'à pH 5 (34).

2°) Influence de la concentration (3), (12).

En 1908, Watson (113) énonça la formule $C^n t$ = constante, formule dans laquelle C est la concentration de la solution antiseptique et t le temps nécessaire pour tuer les germes d'une culture test ; n, l'exposant concentration, de valeur très variable (10 pour les alcools, 6 pour le phénol, 1,6 pour la P.V.P.I., 1 pour les ammoniums quaternaires), montre qu'une dilution de moitié diminue l'activité des alcools d'environ 1000, celle des ammoniums quaternaires de 2 et de la P.V.P.I. de 3.

3°) Influence de la température

On utilise le coefficient θ ou coefficient thermique d'activité mesurant le rapport des délais d'effet létal d'un antiseptique à deux températures différentes de 10°C. Ce coefficient d'activité thermique est très variable selon les antiseptiques. Il est de 1,5 pour le formol, de 3 à 5 pour les phénols et de 30 à 50 pour les acides aliphatiques (34). D'une façon générale, il vaut mieux utiliser des solutions tièdes d'antiseptique qui sont toujours plus actives que les solutions plus froides.

4°) Influence des matières organiques

La présence de matières organiques telles que le pus, le sang et les sérosités a un effet inhibiteur marqué sur l'action de nombreux antiseptiques. Les antiseptiques oxydants, ceux qui agissent par coagulation des protéines et les sels de métaux lourds sont ainsi fortement inhibés (3), (34).

Les raisons de l'inhibition sont variées : consommation du chlore actif pour les dérivés chlorés ou les oxydants en général, qui oxydent tous les composés oxydables du milieu ; absorption de l'antiseptique ; neutralisation par précipitation des protéines comprenant des groupements thiols pour les dérivés mercuriels.

5°) La vitesse de réaction (12)

Les halogènes et les oxydants ont une action létale rapide puisqu'une solution de chlore au millionéme tue la plupart des bactéries en moins de 30 secondes. Par contre les colorants et les sels de mercure agissent de façon lente. Le bichlorure de mercure en solution à 0,5 p. 100 ne tue le staphylocoque qu'en 15 mn.

6°) Influence de l'espèce bactérienne

La sensibilité des espèces microbiennes aux antiseptiques est très variable. De façon générale, il semble que les coques Gram + soient les plus sensibles et que parmi les Gram -, les entéro-bactéries soient moins résistantes que le bacille pyocyanique par exemple.

Les coques sont très sensibles aux halogènes, aux ammoniums quaternaires et à l'hexachlorophène ; les Pseudomonas sont détruits par les halogènes, la chlorhexidine et le borate de phényl mercure, mais sont résistants aux ammoniums quaternaires.

Les bacilles tuberculeux, les spores bactériennes sont très résistants. Certains antiseptiques inhibent la germination des spores et il semble que seuls l'iode et le formol soient sporicides mais à très forte concentration et après un temps de contact très long, ce qui les rend pratiquement inutilisés.

7°) L'effet population (12)

La concentration active d'antiseptique nécessaire pour tuer une suspension bactérienne dépend du nombre de bactéries présentes. Ainsi pour tuer les germes d'un inoculum de staphylocoques, il faut multiplier la concentration d'iode actif par six lorsqu'on passe de 10^{5} à 10^{8} germes par millilitre d'inoculum.

8°) Véhicule ou solvant (12)

L'excipient entrant dans la composition de la solution antiseptique peut parfois diminuer voire neutraliser

l'activité antibactérienne, mais ce phénomène peut s'exercer pour une même préparation différemment selon les germes bactériens. Un antiseptique agissant au niveau cellulaire en solution aqueuse, voit son activité diminuer lorsque l'excipient est un composé organique pouvant également le solubiliser. La concentration en principe actif diminue dans la phase aqueuse entraînant une perte d'activité. De même un antiseptique dont la cible est une fraction lipidique est plus actif dans une émulsion huile-eau. Les sels minéraux font eux aussi varier l'intensité de l'action des antiseptiques qui agissent par un phénomène de choc osmotique au niveau de la membrane cytoplasmique. Ainsi les agents surfactifs sont-ils affectés par le chlorure de sodium et les ions Ca^{++} et Mg^{++} . Mais cette action est parfois plus complexe, anions et cations agissant différemment sur la membrane cellulaire et sur le coefficient de partage de l'antiseptique dans le solvant.

D) PRECAUTIONS NECESSAIRES A LA CONSERVATION DES ANTISEPTIQUES (34)

La manipulation et la conservation des solutions antiseptiques doivent faire l'objet de précautions particulières qui peuvent entraîner, quand elles ne sont pas respectées, l'inactivation des principes actifs qu'elles contiennent.

En premier lieu, il faut éviter leur contamination, car certains germes (notamment les Gram -) peuvent survivre dans des solutions antiseptiques comme celles d'ammonium quaternaire. La contamination peut provenir de l'eau distillée qui se trouve souvent souillée quand elle est conservée trop longtemps ; l'eau désionisée est parfois souillée par l'intermédiaire des résines échangeuses d'ions lorsqu'elles ne sont pas désinfectées régulièrement. En fait il semble que l'eau du robinet chauffée à 60°C soit le diluant le plus convenable et qu'il faille utiliser des placards stériles ou passés à l'alcool pour conserver les solutions d'antiseptiques. La contamination peut aussi provenir des bouchons de liège qui protègent les bactéries par leur tanin et leurs anfractuosités, inactivent les antiseptiques et transmettent la contamination d'un flacon à l'autre. Il est par conséquent impératif de prohiber les bouchons de liège.

Il faut ensuite utiliser l'antiseptique rapidement

(dans la semaine) une fois qu'il est dilué. En effet, de nombreux antiseptiques sont instables en solution diluée ou sensibles à l'oxydation ou à la lumière (les conserver en flacons opaques).

E) QUALITES D'UN ANTISEPTIQUE

D'après ce que nous venons de voir, il est possible d'énoncer un certain nombre de conditions à réaliser pour qu'un antiseptique soit "idéal" :

- Il doit être actif non seulement sur les bactéries, les mycoplasmes, les virus, mais aussi sur les champignons et les protozoaires parasites.

- Il ne doit en aucun cas provoquer l'apparition de souches résistantes.

- Il doit agir rapidement, même en présence de matières organiques sans provoquer la formation de complexes inactifs.

- Il doit donner des solutions stables dans l'eau et avoir des propriétés mouillantes.

- Il doit posséder une certaine rémanence et donc demeurer actif après le séchage.

- Il doit être dénué de toute toxicité vis-à-vis de l'homme et des animaux domestiques.

- Il doit enfin avoir le prix de revient le plus faible possible.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE PARTICULIERE DE TROIS ANTISEPTIQUES : UN ACIDE AMINE AMPHOTERE, LA CHLORHEXIDINE ET LA POLYVINYLPYRROLIDONE IODEE

A) UN ACIDE AMINE AMPHOTERE : LE SEPTISEC

1°) Généralités

Ce produit, commercialisé par la Société Distrivet sous le nom de Septisec, est une solution concentrée dont les principes actifs sont des acides aminés amphotères de type dodécyl-éthyl-glycine, doués de pouvoir mouillant et détergent.

2°) Propriétés physico-chimiques

Le principe actif est de coloration brune et inodore. Sa température de fusion est supérieure à 100°C ; il se décompose à 140°C. Le Septisec est un tensio-actif, c'est-à-dire qu'il est émulsifiant, mouillant, pénétrant et détersif. Il est miscible à l'eau en toute quantité. Il se dépose en une mince couche de produit actif même après le séchage ou le simple lavage à l'eau claire (20).

Les propriétés chimiques résultant du fait que c'est un acide aminé amphotère de formule globale R NH CH COO COOH qui en milieu acide donne : $RNHCH-COOH + H^+ \rightleftharpoons RNH^+ + CH_2 COOH$ et en milieu basique $RNHCH-COOH + OH^- \rightleftharpoons RNH\ CH-COO^- + H_2O$.

3°) Toxicité

a) Toxicité par voie orale

- Toxicité aiguë. La DL_{50} est de 6,81 ml/kg chez le rat mâle et de 11,0 ml/kg pour le rat femelle (88). Pour l'homme, la dose létale serait de 225 g de produit pur, ce qui correspond à 2 litres de solution utilisée pour la désinfection. Cependant, des expériences réalisées avec l'homme, le chien, le chat ont montré que les aliments étaient refusés à des concentrations de 1 et 2 p. 100 (72), ce qui limite considérablement les risques d'ingestion mortelle.

La toxicité aiguë se traduit sur les animaux par une destruction cellulaire, accompagnée d'hémolyse et de précipitation de l'albumine.

- Toxicité chronique. L'utilisation du Septisec, additionné à raison de plus de 0,01 p. 100 du poids des aliments secs

de la ration, pendant une période de trois mois, permet de mettre en évidence des modifications biologiques importantes telles qu'une déformation des lymphocytes dans le sang des femelles, une diminution du taux de la SGPT (Glutamique Pyruvique Transminase Sérique), une diminution du taux des protéines sériques et de l'albumine sérique, une augmentation du poids de la rate et du rein et des modifications des ganglions iliaques et mésentériques (30). Cependant Oudar et Willemur (88) affirment que l'utilisation du Septisec à raison de 0,03 p. 100 à 0,09 p. 100 de la ration séche pendant trois mois ne provoque aucun trouble.

b) Toxicité locale

L'utilisation de la solution mère sur la peau ou sa projection dans l'oeil sont particulièrement irritantes. L'utilisation du produit à 27 p.100 et à 9 p.100 entraîne la formation d'escarres, accompagnées de chute de peau (63). A des concentrations de 0,01 et de 0,05 p.100 les mêmes auteurs ont constaté la formation d'un léger érythème accompagné de nécrose.

Pratiquement la toxicité de la préparation est quasiment nulle puisqu'elle est 10 fois moindre à poids égal que celle du sel de cuisine et 5 fois moindre que celle de l'alcool éthylique (88). Il importe cependant, lors de projection accidentelle du produit pur ou faiblement dilué sur la peau ou sur les muqueuses, de rincer abondamment.

4°) Résistance

L'utilisation, chez le rat, de concentrations volontairement faibles, puis usuelles, n'a pas permis de mettre en évidence la formation de souches résistantes au Septisec (116).

5°) Mécanisme d'action

Le Septisec forme avec la surface bactérienne une liaison absorptive. En effet une liaison ionique réversible peut s'établir aussi bien avec les groupements anioniques qu'avec les groupements cationiques du germe. Si un nombre suffisamment élevé de molécules actives se trouve ainsi lié

au germe, celui-ci subit une modification de sa tension interfaciale et son contenu cellulaire sort de la membrane cellulaire ce qui provoque sa mort. Le phénomène de fuite cellulaire a été observé par Lickefeld sur un Pseudomonas (73).

Ce mécanisme d'action a plusieurs conséquences :

- Le Septisec n'a aucune efficacité sur les petits virus de structure relativement simple comme le virus aphteux (82). Par contre le Septisec a une activité plus marquée sur les grands virus à la structure plus complexe.

- L'efficacité du Septisec varie en fonction du nombre de groupements présents sur les différents germes et permettant l'établissement de liaisons ioniques et intermoléculaires.

- Des liaisons intermoléculaires peuvent se créer entre les molécules de substances actives et former des micelles entre lesquelles les germes peuvent survivre.

- La liaison ionique étant réversible, elle provoque une agression beaucoup plus faible sur les cellules de la peau.

6°) Activité in vitro du Septisec

a) Spectre d'activité

- Activité bactéricide : Le Septisec a un spectre d'activité très large. Il agit en effet sur les familles de germes suivants :

- Micrococcaceae : Staphylocoque, streptocoque,...

-Entérobactériaceae : Colibacille, salmonelle, Proteus,...

- Parvobactériaceae : Pasteurelle, brucelle (Brucella abortus bovis)

- Les bacilles sporulés aerobies (Bacillus anthracis) et anaérobies (Clostridium)

- Les Pseudomonales : Pseudomonas,...

- Les Actinomycétales : Erysipelothrix

- Les Rickettsiales.

Les mycobactéries sont beaucoup plus résistantes, en effet, Mycobacterium tuberculosis est détruit à 50° après 1 h de contact avec une solution à 2 p. 100 (112).

- Activité mycoplasmicide : Le Septisec est actif sur les mycoplasmes, notamment ceux des infections porcines et aviaires.

- Activité virulicide : Le Septisec est actif sur de très nombreux virus dont :

. Les virus de la peste porcine classique et de la maladie d'Aujeszky (99) ;

. Les virus de la grippe équine et de la rhinopneumonie équine ;

. Les virus de la maladie de Newcastle et de la bronchite infectieuse aviaire ;

. Le virus de la vaccine ;

. Les virus de la myxomatose et de la variole du lapin ;

Rappelons cependant qu'il n'est pas actif sur les virus de petite taille comme celui de la fièvre aphteuse.

- Activité fongicide (88) : Le Septisec est actif sur la plupart des champignons, comme ceux responsables des aspergilloses (Aspergillus fumigatus, Aspergillus niger), des candidoses (Candida albicans) des teignes (Trichophyton) et des épidermophytoses (Epidermophyton).

b) Activité bactéricide

Dans une étude sur le Septisec, Oudar et coll. (87) montrent par la méthode des temps de contact que le Septisec à 2 p. 100 est bactéricide en 10 mn pour Pseudomonas aéruginosa, en 5 mn pour Klebsiella pneumoniae et Clostridium perfringens et en 1 mn pour tous les autres germes testés (Staphylococcus aureus, Streptococcus βagalactica, Pasteurella Multocida, Yersinia pestis, Brucella B , Salmonella enteritidis, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Coryne-bactérium ovis).

c) Activité bactériostatique

Les mêmes auteurs (87) par la méthode des cylindres (méthode qui consiste à déposer le produit à essayer dans des cupules faites à l'emporte-pièce sur une gélose préalablement ensemencée avec un bouillon de culture) et en utilisant du Septisec à 2 p. 100 obtiennent les résultats suivants (diamètre d'inhibition exprimé en mn) :

	GELOSE ORDINAIRE	GELOSE AU SANG
Staphylococcus aureus	22	
Streptococcus βagalactiae	22	42 - 55
Escherichia coli	24	
Pseudomonas aeruginosa	11	
Corynebactérium pyogenes	30	

Nous remarquons que le Pseudomonas est le plus résistant alors que les deux autres Gram - sont plus sensibles que les Gram +. En outre, il semble que le sang, loin d'inhiber l'action du Septisec, la renforce.

7°) Activité in vivo du Septisec

Oudar et coll. (87) pulvérisent sur des trayons de vaches des suspensions contenant des Staphylococcus aureus et des Streptococcus βagalactiae, puis des solutions de Septisec à 4 p. 100. Ils constatent ainsi que lors d'infection élevée (suspension à 500 10^6 bact./ml) le produit détruit 50 p. 100 des staphylocoques et 100 p. 100 des streptocoques en 3 mn ; lors d'infection moins forte (5.10^6 bact./ml) 100 p. 100 des germes sont détruits en 3mn.

8°) Facteurs influençant l'activité du Septisec

La Société Distrivet affirme que son produit est actif même en présence de matière organique (115) ce que semblent confirmer Saincliver et Kerherve (99) qui notent que le Septisec est insensible à la présence de lait et Oudar et coll., qui lors de tests de bactériostase (87), reconnaissent que les résultats obtenus sur gélose au sang sont meilleurs

que ceux obtenus sur une gélose ordinaire.

B) LA CHLORHEXIDINE

1°) Généralités

Les recherches sur les propriétés biologiques de certains polyguanides permirent de constater que les dérivés de formule générale aryl-NHC-(NH)-NHC-(NH)—$(CH_2)_n$—CHN-(NH)(NHC)-(NH)-N H aryl ont une activité antimicrobienne marquée vis-à-vis d'un grand nombre de germes. De tels biguanides offrent des possibilités considérables pour des modifications de structure et beaucoup de ces substances ont été synthétisées et testées avant qu'il soit finalement remarqué qu'un composé avait des propriétés bactériostatiques les plus évidentes. Ce composé, la chlorhexidine dont les propriétés ont été décrites dès 1954 par Davies et coll. (29), est depuis l'objet de recherches poussées en laboratoire, en clinique et en médecine vétérinaire. Le noyau aryl de la chlorhexidine est un parachlorobenzene.

2°) Propriétés physiques

La chlorhexidine est un sel incolore, sans odeur, fortement basique et hautement insoluble. Le diacétate de chlorhexidine a un point de fusion de 150°C et il est soluble à 1,9 p. 100 dans l'eau, cependant que le dihydrochloride a un point de fusion de 273°C et une solubilité de 0,06 p. 100 (71).

3°) Toxicité

a) Toxicité par voie orale

- Toxicité chronique : Davies (29) en donnant à des rats uniquement de l'eau de boisson à 1/2000 de chlorhexidine obtient pendant un an un élevage de rats parfaitement normaux avec des portées normales. De plus la croissance pondérale, la formule et la numération sanguines, le dosage de l'hémoglobine sont restés identiques à ceux des témoins.

- Toxicité aiguë : Chez les petits animaux les DL_{50} sont de 2000 mg/kg pour l'acétate et 1800 mg/kg pour le glucomate.

b) Toxicité par voie veineuse

- Toxicité aiguë : Une dose de 25 mg/kg d'acétate de chlorhexidine suffit à tuer une souris.

- Injections accidentelles : En milieu hospitalier, des perfusions intraveineuses de chlorhexidine à des concentrations de 0,02 p. 100 pour des volumes compris entre quelques millilitres et un litre ont été administrées par erreur sans que des effets toxiques aient été constatés (114).

c) Absorption percutanée

Des études réalisées avec des rats montrent que l'absorption est négligeable au niveau de la peau intacte. Cependant la part du produit absorbé explique la persistance de l'activité antibactérienne. Par application de chlorhexidine à 4 p. 100 sur la peau érodée, une certaine absorption est observée chez le rat après 4 h de contact. D'autres expériences, réalisées avec le carbone 14, n'ont pas permis de déceler la présence de radio-activité au niveau du système nerveux central.

d) Toxicité locale

- Sur la peau : Une étude à grande échelle sur l'utilisation de la chlorhexidine à 0,05 p. 100 n'a pas permis de mettre en évidence de phénomène d'irritation. De plus, depuis que ce produit est utilisé, seuls quelques cas de sensibilisation cutanée ont été rapportés (114).

- Sur les plaies et les brûlures : L'application d'une solution de chlorhexidine sur les plaies et les brûlures provoque parfois des réactions douloureuses. Les plaies cicatrisent très bien avec une solution de chlorhexidine à 1 p. 100. Cependant, seules les solutions diluées doivent être utilisées lors d'applications répétées.

- Sur la conjonctive : Le gluconate peut être utilisé à des concentrations allant jusqu'à 0,02 p. 100 (114). A l'heure actuelle, de nombreux collyres, utilisant la chlorhexidine comme antiseptique, sont disponibles (50).

- Sur la plèvre et le péritoine : La concentration de 0,02 p. 100 de chlorhexidine en solution isotonique est la concentration maximale que l'on puisse utiliser sans danger.

- Sur les méninges : L'injection d'une solution à 0,1 p. 100 de chlorhexidine dans le liquide céphalo-rachidien du singe entraîne la mort de l'animal. Ce phénomène est commun à la plupart des antiseptiques. Il est donc formellement déconseillé de mettre en contact la chlorhexidine, quelle que soit la concentration, avec le cerveau et les méninges.

- Dans l'oreille : La chlorhexidine, sous toutes ses formes et dilutions, ne doit pas être mise en contact avec les éléments de l'oreille moyenne (ne pas instiller dans le conduit auditif externe en cas de perforation tympanique).

- Sur la vessie : Il est déconseillé d'employer des concentrations supérieures à 0,02 p. 100 dans les irrigations vésicales.

4°) Résistance

Des essais ont été faits pour induire ou déceler la résistance à la chlorhexidine, notamment par transfert dans une variété de milieux différents, tout cela sans résultat (29), (58). Cependant, Bentley et coll. (6), Burton et Witby (13) mentionnent l'existence de Pseudomonas, et Lubsen (81) de Proteus résistants à la chlorhexidine.

5°) Mode d'action de la chlorhexidine

Hugo et Longworth (58) montrent dès 1964 que la chlorhexidine est rapidement adsorbée à la surface bactérienne en réagissant avec les radicaux chargés négativement de la paroi bactérienne (61) et qu'à de faibles concentrations non bactéricides (0,01 p. 100), elle provoque une fuite des constituants cellulaires (58), (97), (98). Aux concentrations bactéricides, il semble que la fuite cellulaire ne se produise plus, alors que le phénomène d'adsorption a toujours lieu et qu'il se forme des strates de produit autour de la cellule bactérienne. En effet, à des concentrations de l'ordre de 0,05 p. 100, il n'y a pas perte de cytoplasme, la cellule reste intacte bien qu'il y ait des

saillies à la surface (20), (27) et que le cytoplasme semble coagulé (80). Le taux de chlorhexidine adsorbé dépend de sa concentration, de la densité des germes, de l'espèce bactérienne en cause, de la composition et du pH du milieu. Un accroissement du pH favorise un accroissement de la quantité de chlorhexidine adsorbée, du sans doute à un accroissement dans le degré d'ionisation des groupes à la surface bactérienne. Longworth et Hugo (61) montrent que la chlorhexidine n'interfère pas avec la synthèse des composés mucopeptidiques de la paroi cellulaire et n'entraîne pas la lyse de parois bactériennes isolées.

De faibles concentrations de chlorhexidine stimulent l'activité de la deshydrogénase ; mais de hautes concentrations inhibent son activité (61). Des concentrations supérieures à celles provoquant la fuite des constituants cellulaires, précipitent les pentoses et les protéinates d'une solution de cytoplasme bactérien.

Harold et coll. (56) montrent avec le Streptococcus faecalis que la chlorhexidine inhibe l'adenosine triphosphate lié à la membrane et qu'elle provoque l'inhibition de la prise de K + par échange avec le Na^+ et le H^+. Elle favorise aussi la stimulation de la glycolyse causée par la prise de K^+ et il n'y a pas d'inhibition de formation d'ATP due à la glycolyse. A des concentrations utilisées pour la chlorhexidine (8 à 10 microgrammes par millilitre) il n'y a pas d'inhibition de la NADH déshydrogénase liée à la membrane, pas plus que les échanges autologues du ^{42}K et du K.

Ces réactions pourraient être associées à l'induction de la bactériostase. En effet aux concentrations bactériostatiques pour Escherichia Coli (1-2 microg/ml) et Staphylococcus aureus (0,3 microg/ml), le matériel absorbant à 260 nm et les pentoses commencent à fuir la cellule et la diminution du tetrazolium est légèrement stimulée pour s'arrêter à des concentrations 5 à 10 fois supérieures aux concentrations bactériostatiques (80).

Ces remarques sont généralement compatibles avec ce que l'on pense du mode d'action de la chlorhexidine : c'est à-dire que la bactériostase peut être induite par une légère

lésion de la membrane et une inhibition des enzymes souvent précédée de leur stimulation (80).

L'action bactéricide doit s'expliquer par d'autres raisons, car aux concentrations bactéricides il n'y a plus de fuite de constituants cellulaires. D'une part la présence de strates de chlorhexidine autour de la cellule pourrait expliquer par un simple phénomène physique l'arrêt de la fuite des constituants cellulaires et il y aurait d'autre part un effet secondaire létal se caractérisant par la précipitation de macromolécules intracellulaires à des concentrations 500 à 2000 fois supérieures aux concentrations bactériostatiques.

Les différentes réactions des espèces bactériennes s'expliqueraient par leur plus ou moins grande capacité à adsorber la chlorhexidine. C'est ainsi que Bentley et coll. (6) suggérent que la résistance de certaines souches de Pseudomonas à la chlorhexidine est due à la non adsorption de la chlorhexidine par une faible proportion de la population qui peut survivre dans le produit ainsi que leur descendance.

6°) Activité in vitro de la Chlorhexidine

Les auteurs qui ont étudié l'activité de la chlorhéxidine s'accordent à reconnaître son excellente activité aussi bien in vivo (18), (79), (83), (86), (96), (107) qu'in vitro (35), (70), (91), (109).

A) Activité bactéricide

a) Spectre d'activité

Le produit utilisé sous forme de digluconate de chlorhexidine est bactéricide à la fois pour les Gram + et les Gram - (les Gram + sont plus sensibles que les Gram -) à des concentrations relativement faibles. Il est presque totalement inactif sur les mycobactéries (111). Sur les spores, son action n'est sensible qu'à des températures élévées (98-100°C) (54), (84). Son effet n'est appréciable sur les champignons qu'à des concentrations de l'ordre de 10^{-3} à 10^{-4} ; enfin ce produit n'a aucune action sur les virus (5).

b) Concentration bactéricide

Le tableau suivant (114) exprime l'activité bacté-

ricide du produit par le pourcentage de germes tués dans l'échantillon traité en fonction du temps de contact (Inoculat 10^9 germes/ml) dans de l'eau distillée ; température 25°C ; neutralisants : lécithine 3 p. 100, lubrol N 10 p. 100 ; 100 microg/ml = dilution 1/10 000).

	microg / ml	1 mn	10 mn	30 mn
Staphylococcus aureus	200	99,573	99,999	99,999
	100	99,911	99,940	99,976
Pseudomonas aeruginosa	200	99,583	99,984	99,999
	100	99,259	99,967	99,999
Klebsiella pneumoniae	100	99,308	99,948	99,996
	50	92,238	98,415	99,510
Salmonella typhimurium	100	99,985	99,998	99,999
	50	99,499	99,963	99,995
Shigella sonnei	200	99,149	99,984	99,999
	100	95,429	99,661	99,993
Enterobacter aerogenes	200	99,855	99,993	99,999
	100	99,339	99,339	99,954
Proteus morganii	200	98,852	98,852	99,975
	100	94,752	94,752	99,865

Les résultats montrent que même fortement dilué, le digluconate de chlorhexidine exerce une action b ctéricide dans la minute qui suit son application et se montre de plus en plus actif à mesure que le temps de contact s'accroît. Plus généralement, la chlorhexidine a une action bactéricide sur les Gram - pour des dilutions allant de 1/15000 pour les Pseudomonas à 1/40000 pour Salmonella typhosa en 10 mn ; la seule exception étant le Proteus vulgaris sensible seulement à une dilution de 1/5000 en 10 mn.

B) Activité bactériostatique

a) Spectre d'activité

L'activité bactériostatique de la chlorhexidine s'exerce sur les Gram + et les Gram -. A de faibles concentrations, elle devient bactériostatique pour le bacille de Koch (elle n'est bactéricide sur ce bacille qu'en solution alcoolique). Elle est active sur les germes sporulés dont elle empêche la germination et le développement.

La chlorhexidine empêche le développement des algues à des concentrations de l'ordre de 50 microg/ml.

Les champignons et les levures sont sensibles à la chlorhexidine. In vitro, elle posséde une activité fongistatiques sur les candida et les dermatophytes dont le Trichophyton (4), (109). La sensibilité des spores est très variable selon l'espèce et c'est la classe des moisissures qui constitue les microorganismes les plus résistants.

b) Concentration bactériostatique

- Concentration minimale inhibitrice (voici quelques C.M.I. exprimées en microg/ml (56)).

Streptococcus faecalis	1,4 - 3,0
Staphylococcus epidermidis	5,0
Escherichia coli	1,0 - 5,0
Proteus mirabilis	25,0 - 100,0
Pseudomonas aeruginosa	3,0 - 6,0

- Test de diffusion en gélose : le digluconate de chlorhexidine est fortement absorbé par le papier filtre et les autres matériaux cellulosiques, ce qui aura pour effet de réduire les zones d'inhibition. Cependant les "antiseptogrammes" réalisés avec le digluconate montrent qu'il est le seul antiseptique dont l'activité vis-à-vis de Pseudomonas aeruginosa ne se modifie pas en présence de 20 p. 100 de sang humain (34).

7°) Activité in vivo de la chlorhexidine

Davies (29), en utilisant des souris, provoque des lésions artificielles qu'il contamine avec des streptocoques pathogènes. Pratiquement, toutes les souris traitées avec la chlorhexidine survivent alors qu'il observe la mort des sujets témoins.

La chlorhexidine diffuse peu : en effet Martin (83) et Davies (29) montrent que, lors d'infection intrapéritonéale ou sous-cutanée, l'administration de chlorhexidine par voie orale ou sous-cutanée, à distance du point d'infection, n'empêche pas la mort des sujets traités.

L'ensemencement d'une partie délimitée de la peau selon la méthode de Story (106) avec étalement d'une solution de chlorhexidine à 0,1 p. 100 pendant une minute, aussi bien que les biopsies cutanées (86), permettent de mettre en évidence la réduction considérable du nombre de germes dans un temps court (1 mn).

Dans une série de publications concernant la comparaison de toute une série d'antiseptiques, Lowbury et coll. (74), (76), (77), (78) permettent de mettre en évidence les points suivants : Que ce soit en désinfection rapide (solution alcoolique de chlorhexidine à 0,5 p. 100), pour le rinçage unique ou répété des mains artificiellement souillées par le Staphylocoque doré ou le bacille pyocyanique, la chlorhexidine s'est révélée être le meilleur antiseptique, seule la solution alcoolique d'iode se révélant aussi active dans la désinfection rapide des mains.

8°) Facteurs influençant l'activité de la chlorhexidine

a) Influence des liquides biologiques

Selon Lawrence (71), la chlorhexidine comme tous

les antiseptiques voit son activité diminuée par certaines substances organiques : lait, sang, pus. Les milieux neutralisants la chlorhexidine emploient le jaune d'oeuf. Cette diminution d'activité est toutefois moins nette que celle observée avec les autres antiseptiques (14).

- Influence du sérum : l'effet du sérum sur la chlorhexidine varie suivant le germe. Si on observe une diminution de l'effet bactéricide, celui-ci reste important comme le montre le tableau suivant (pourcentage de germes tués en fonction du temps).

	Eau ou Sérum	microg / ml	Pourcentage des germes tués	
			En 10 mn	En 30 mn
Staphylococcus aureus	Eau	200	99,999	99,999
	10 p.100 Sérum	200	99,985	99,998
	20 p.100 Sérum	200		99,844
Pseudomonas aeruginosa	Eau	200	99,999	99,999
		100	99,743	99,980
	10 p.100 Sérum	800	99,999	99,999
		400	99,986	99,999
		200	96,612	99,958

- Influence du sang : Calman et Muray (14), en comparant l'activité de certains antiseptiques en présence de sang, montrent que la chlorhéxidine est beaucoup plus efficace que les autres antiseptiques et recommandent même son emploi en milieu obstétrical.

- Influence du lait (114) : Une concentration de 200 microg/ml de chlorhexidine dans du lait dilué à 1 p. 100 confère à la solution une activité bactéricide rapide sur le staphylocoque doré, Streptococcus Bagalactiae et le colibacille. La présence de 5 p. 100 de lait ou plus provoque une baisse marquée de l'activité bactéricide mais la même concentration de chlorhexidine (200 microg/ml) montre une action bactériostatique qui demeure totale sur les germes dans le lait pur.

b) Influence du pH (114)

C'est au voisinage de la neutralité que l'activité de la chlorhexidine est optimale. Entre pH 5 et pH 8. L'activité antibactérienne dépend du germe rencontré ; ainsi l'activité sur le colibacille et le staphylocoque doré augmente avec le pH, alors que l'inverse se produit avec le bacille pyocyanique.

c) Influence des savons et des détergents

De fortes concentrations de savons sont nécessaires pour inhiber l'activité de la chlorhexidine. Les traces de savon persistant sur les mains après lavage n'ont aucune influence sur l'activité de la chlorhexidine. Des expériences faites chez la souris montrent qu'elle conserve toute son activité quand elle est en suspension dans des savons à 0,2 p. 100 (114). De plus, elle est compatible avec les détergents non ioniques et cationiques.

d) Précautions de conservation

Le liège contient des tanins hydrosolubles qui inhibent l'activité bactéricide des antiseptiques et la chlorhexidine n'échappe pas à cette règle. Par suite, les solutions de chlorhexidine ne doivent jamais être conservées dans des flacons à bouchons de liège.

C) LA POLYVINYL PYRROLIDONE IODEE : P.V.P.I.

1°) Généralités

Les composés tels le lugol, la teinture d'iode et l'alcool iodé ont été employés de façon courante dès 1887 par Sereins en chirurgie. Malgré leur bon pouvoir de pénétration, leur rapide activité bactéricide, fongicide, sporicide et même virulicide, ces dérivés ne sont pas utilisés de façon

extensive à cause des inconvénients inhérents à l'iode lui-même. En effet, l'iode est faiblement soluble dans l'eau, ses solutions alcooliques sont caustiques et irritantes lors d'utilisation prolongée et il provoque de nombreuses réactions d'allergie. C'est pourquoi la découverte des iodophores a constitué un progrès appréciable.

Un iodophore est défini par Reddish (94) comme un complexe résultant de la combinaison de l'iode et d'un agent porteur ou solubilisant et contenant ou libérant l'iode de façon progressive au fur et à mesure de son utilisation dans le milieu. Il n'y a pas d'accumulation d'iode libre dans le milieu donc moins de risques toxiques, ce gain de tolérance semblant s'être fait sans perte sensible de l'activité antibactérienne (8).

La P.V.P.I. fut découverte à la suite de recherches sur les propriétés détoxifiantes de la polyvinylpyrrolidone (P.V.P.) vis-à-vis de substances inorganiques comme l'iode, le lugol, la teinture d'iode. En effet en mettant en contact une solution de lugol ou de teinture d'iode avec la P.V.P., on obtenait une solution de couleur brun acajou très peu toxique. Shélanski et Shélanski (103) montrèrent que l'iode se fixait à la P.V.P. sous forme d'iodure inorganiquement lié qui agissait en stabilisant l'iode de la même façon que l'iodure de potassium dans la solution de lugol, donc que la P.V.P. agissait comme transporteur d'iode dans les solutions aqueuses. Ils constatèrent de plus que les vapeurs d'iode étaient directement solubles dans la poudre de P.V.P..

2°) Propriétés de la P.V.P.I.

La P.V.P. est un des produits finaux d'une série de réactions commençant avec l'acétylène et le formol. Il a d'abord été utilisé comme succédané pour rétablir le volume sanguin.

a) Propriétés physiques

La P.V.P. est une poudre blanche, immédiatement soluble dans l'eau et de nombreux solvants organiques, stable au chauffage jusqu'à 100°C pendant au moins 16 h. Cette poudre est hydroscopique mais cependant stable et peut être stockée indéfiniment.

b) Propriétés physiologiques

La P.V.P. ressemble aux protéines naturelles du plasma sanguin dans sa capacité à se lier à l'eau et à absorber les autres substances. Elle a été utilisée de façon extensive associée au chlorure de sodium dans les états de choc. Elle assure alors les fonctions de porteur de protéines plasmatiques et elle adsorbe les produits physiologiques et non physiologiques comme la bilirubine, l'atrabiline, les vitamines B1, C, P et des toxines comme celles de la diphtérie, du botulisme et du tétanos.

c) Propriétés pharmacologiques

La principale propriété pharmacologique de la P.V.P. est de pouvoir retarder et potentialiser un grand nombre de substances utilisées par voie parentérale.

d) Nature chimique de la P.V.P.I. (103), (104)

La P.V.P.I. agit à la manière d'une protéine plasmatique. En se combinant avec l'iode : une faible partie (moins de 1 p. 100) est transformée en iode inorganique en se liant à la fin des molécules de P.V.P.. Selon le poids moléculaire de la P.V.P., environ 30 p. 100 de l'iode est converti en iode inorganique : le reste de l'iode est sous forme d'iode libre élémentaire rendu soluble par l'iodure inorganique. 30 p. 100 de l'iode est converti en iodure et permet la mise en solution des 70 p. 100 d'iode restant alors que dans le Lugol deux parts d'iodure de potassium sont nécessaires à la mise en solution d'une part d'iode libre.

Les 2/3 de l'iode originel sont sous forme d'iode disponible, forme efficace pour l'activité bactéricide. L'iode inorganique lié à la P.V.P. et l'iode organique ne sont pas utilisables. La proportion la plus satisfaisante d'iode à respecter pour obtenir le maximum d'iode disponible est de 15 p. 100 d'iode pour 85 p. 100 de P.V.P. et la poudre obtenue contient donc 10 p. 100 d'iode disponible, 5 p.100 d'ion iodure étant fixés à la P.V.P. ; une solution aqueuse de cette poudre contient 1 p. 100 d'iode actif.

3°) Toxicité de la P.V.P.I. (103)

La toxicité de la P.V.P.I. est souvent comparée à celles du Lugol et de la teinture d'iode, composés dont la toxicité limite l'emploi.

a) Toxicité par voie orale

Shélanski, en faisant prendre par voie orale à des lots de rats des solutions de Lugol et de P.V.P.I. contenant 2,5 g d'iode libre, obtient les DL_{50} suivantes : 400 puis 107,5 mg d'iode libre par kg de poids vif pour le Lugol et 1300 puis 962,5 mg d'iode libre par kg de poids vif pour la P.V.P.I. (103). La P.V.P.I. est donc dans le premier cas trois fois moins toxique et dans le second cas neuf fois moins toxique que la solution de Lugol.

b) Toxicité de la P.V.P.I. sur la peau intacte

Shélanski utilise des solutions de P.V.P.I. et de teinture d'iode à 2 p. 100 d'iode libre dans des pansements appliqués sur la peau intacte de lapin. Il faut retirer au bout d'une journée les pansements à la teinture d'iode car des oedèmes et des érythèmes se forment, alors qu'aucune réaction notable n'est remarquée avec la P.V.P.I. même au bout de 4 jours. Les pansements sont appliqués sur les mêmes lapins 15 jours plus tard et s'il faut retirer rapidement les pansements à la teinture d'iode, au bout de 2 jours les pansements à la P.V.P.I. sont retirés sans que de réactions notables apparaissent.

c) Toxicité de la P.V.P.I. sur la peau lésée

Les tests décrits au paragraphe précédent sont utilisés sur des lapins et des hommes après abrasion de la peau au papier de verre. Les résultats sont les mêmes et ni érythème ni oedème ne sont observés avec l'utilisation de la P.V.P.I.. De plus, lorsque le pansement est retiré au bout de quatre jours, les lésions sont en bonne voie de guérison.

d) Action toxique de la P.V.P.I. sur les muqueuses

Shélanski (103) instille une dose unique de 0,5 cm

de solutions de Lugol et de P.V.P.I. à 1 p. 100 d'iode libre dans les yeux de lapins. Il constate un léger érythème avec la solution de P.V.P.I. alors que le lugol provoque de sérieux érythèmes, des oedèmes et des lésions de la cornée.

Le même auteur instille des doses quotidiennes de 0,1 cm des mêmes solutions dans les yeux de porcs et de lapins. S'il faut arrêter les instillations de Lugol au bout de 3 jours, la P.V.P.I. est instillée pendant 15 jours avec seulement une légère réaction oedémateuse fugace. Les instillations de P.V.P.I. sont reprises après 15 jours de repos sans que surviennent des réactions particulières.

e) Sensibilisation à la P.V.P.I.

On vient de voir, avec Shélanski, qu'une nouvelle application de P.V.P.I. 15 jours après une série d'application n'entraîne pas de phénomène particulier. Bogash (9) rapporte que, sur un total de 5900 cas hospitaliers sur lesquels la P.V.P.I. a été employée, il n'y eut que trois réactions de sensibilisation.

4°) Mode d'action de la P.V.P.I.

La P.V.P.I. agit par l'iode qu'elle libère dans le milieu. Son action est due au pouvoir oxydant de l'iode qui lui permet de détruire les protéines structurales et les enzymes bactériennes mais son mécanisme d'action est encore mal connu (12).

5°) Activité in vitro de la P.V.P.I.

Il est difficile de se faire une opinion précise et de comparer les résultats de l'activité in vitro de la P.V.P.I. car les méthodes d'études utilisées pour connaître l'activité bactéricide et bactériostatique de la P.V.P.I. sont très variables.

Gershenfeld (48) en employant le thiosulfate de sodium comme neutralisant, trouve que la P.V.P.I. diluée au 1/10 a une action bactéricide en 15 s. sur les coques Gram +, les entérobactéries et les Pseudomonas ; par contre, il faudrait plus de 10 mn au produit pour tuer les formes

végétatives de Bacillus subtilis, Clostridium perfringens et Clostridium tétani et plus de deux heures pour tuer leurs spores.

Berche et coll. (7), par la méthode des répliques en milieu gélosé, confirme la rapidité d'action du produit puisqu'il obtient, à partir de 13 souches bactériennes différentes et une souche de Candida albicans, moins de 1 p. 100 de survivants après un contact de 10 s. avec une solution au 1/128 et au 1/4 en eau albumineuse.

Pujol et coll. (91), en utilisant un ensemenceur à sites multiples et par repiquage sur milieu contenant du thioglycolate, montrent qu'une dilution à 1/16 de P.V.P.I. permet d'obtenir, après 5 mn de contact, moins de 1 p. 100 de survivants pour tous les germes qu'ils testent.

Cluzel (19), par la méthode de filtration sur membrane, selon les normes AFNOR (réduction à 10^{-6} de la population initiale, 5 mn de contact, température de 30°C ± 1°C), obtient les résultats suivants :

	Eau distillée pH 7,3		Eau albumineuse 10 p. 100	
	Dilution	mg/ml de PVPI	Dilution	mg/ml de PVPI
Staph. aureus	1/1600	6,4		
Strept. faecalis	1/3200	3,2		
Escher. Coli	1/1600	6,4	1/25	4000
Pseudo. aeruginosa	1/800	12,8		

S'appuyant sur ces résultats, Chanal (17) reconnaît à la P.V.P.I. une excellente activité puisque la P.V.P.I. est bactéricide en 3 mn sur tous les germes testés à des concentrations de 1/800. Il faut noter aussi que la présence d'albumine réduit d'au moins 64 fois l'activité de la P.V.P.I., chiffre dont il faut tenir compte pour les résultats des tests de bactéricidie.

Enfin, Vialler (110) note la bonne activité de la P.V.P.I. sur la plupart des mycobactéries en 5 mn avec une solution à 4 p. 100.

6°) Activité in vivo de la P.V.P.I.

L'estimation de l'activité in vivo de la P.V.P.I. est généralement visuelle ou clinique, plus rarement chiffrée en raison des difficultés rencontrées lors des tentatives d'estimation de la flore cutanée et des prélèvements.

La Société Sarget, qui commercialise la P.V.P.I. sous forme de solution à 1 p. 100 d'iode libre, préconise l'utilisation de son produit en gynécologie, en chirurgie et en dermatologie (117). De nombreux auteurs (16), (42), (43), (44), (51) reconnaissent son action bactéricide in vivo dans différentes destinations (désinfection pré-opératoire, badigeonnage local, désinfection cutanée) et sous différentes formes (solution, spray, shampoing).

Gaines A.L. (45), avec des études faites sur les lésions de scarifications sur les animaux, montre que la P.V.P.I. n'interfère pas avec le processus de guérison. Avec ses collaborateurs, il évalue l'activité de la P.V.P.I. et rapporte que lors de 200 interventions chirurgicales majeures, la P.V.P.I. s'est montrée comme étant insurpassable comme agent germicide dans les brûlures et pour les ulcères.

Rabinovitz (92) constate un nombre anormalement bas de complications infectieuses post-opératoires sur 125 opérations orthopédiques en utilisant la P.V.P.I. en solution et en spray et ne note pas de cas évident d'irritation, de lésion ou de réaction allergique.

Chanal (17) en étudiant l'activité de la teinture

d'iode et de la P.V.P.I. trouve une action germicide comparable et note que l'action bactéricide est maximale dès la 5eme minute d'application et que la baisse du nombre de bactéries vivantes est de l'ordre de 1,5 log, quel que soit le type de germe. Par le test de la flore augmentée, il observe que l'action de la teinture d'iode semble meilleure ; cependant si son action maximale est obtenue en 30 mn, elle est obtenue en 10 mn avec la P.V.P.I..

Crémieux et coll. (24) constate que la P.V.P.I. à 2 p. 1000 réduit le nombre de germes aérobies au niveau du pli inguinal et du pli du coude, de 3 à 4 logarithmes (soit une réduction de 1000 à 10 000 germes à 1 germe). Gershenfeld (48), (49) lui, reconnaît une excellente activité antibactérienne et antimycosique dans les infections vaginales.

7°) Facteurs influençant l'activité de la P.V.P.I.

Tous les désinfectants à base d'halogène réagissent avec les matières organiques ce qui réduit d'autant la quantité d'halogène libre (12), et donc l'activité. Ce phénomène est négligeable lorsque les concentrations utilisées sont élevées, comme c'est le cas pour la désinfection cutanée. Cependant, Davies (29) rapporte que tant que le pH ne s'élève pas au dessus de 4, les solutions d'iodophores conservent une bonne activité même en présence de matières organiques.

TROISIEME PARTIE

ETUDE IN VITRO DE L'ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE ET BACTERICIDE D'UN ACIDE AMINE AMPHOTERE (LE SEPTISEC) DE LA CHLORHEXIDINE ET DE LA POLYVINYLPYRROLIDONE IODEE (P.V.P.I.).

A) EXPLORATION DE LA BACTERIOSTASE

1°) Matériel et méthode

a) Principe

La méthode utilisée, méthode dite des confettis de Bondi, consiste à imprégner des disques de papier buvard avec des antiseptiques à différentes concentrations et à les déposer sur une gélose préalablement ensemencée avec un germe déterminé. Les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve de façon à laisser diffuser l'antiseptique afin qu'il empêche la pousse des germes.

b) Matériel

- Les souches bactériennes : Crémieux et coll. (21) préconisent pour étudier l'activité antiseptique d'un produit d'utiliser deux souches Gram - dont un Pseudomonas et deux souches Gram + dont Streptococcus faecalis. Pour notre part, nous utilisons deux souches Gram + (Staphylococcus epidermidis et Streptococcus faecalis) et trois souches Gram - (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa et Proteus mirabilis).

- Les disques : Ils sont comparables à ceux utilisés pour les antibiogrammes, mais vierges. Leur diamètre est de 6,5 mm.

- Les géloses : Nous utilisons comme milieu des milieux Mueller-Hinton, milieux couramment utilisés pour l'étude des antibiotiques et dont la composition bien déterminée permet une diffusion constante des substances d'une boîte à l'autre. Pour la pousse du streptocoque, nous ajoutons quelques gouttes de sang défibriné de mouton dans la gélose.

c) Méthode

Les souches sont repiquées deux fois à 24 h d'intervalle dans un bouillon ordinaire ou dans un bouillon pour streptocoques. De deux à dix gouttes (selon le germe) sont mises en suspension dans 10 ml d'eau distillée stérile ; trois gouttes de cette suspension sont déposées à la surface de la gélose et étendues à l'aide d'une pipette rateau de façon à ce qu'au bout de 24 h d'étuve à 37°C, un film continu de souches bactériennes à la limite de la confluence se développe à la

surface de la boîte de Pétri.

Après 15 mn de séchage, nous disposons à la surface de la gélose des disques piqués avec une aiguille montée et imprégnée d'un antiseptique à concentration donnée. Les boîtes de Pétri sont ensuite portées à l'étuve à 37°C et après 24 h le diamètre de la zone est mesuré et noté. Les boîtes de Pétri sont ensuite remises à l'étuve à 37°C pendant 24 h et le diamètre de la zone d'inhibition est de nouveau mesuré et noté.

Pratiquement, chaque jour nous testons tous les germes avec un antiseptique donné. Au début, nous utilisons les huit concentrations notées de 1 à 8 (de 40 p. 100 à 0,1 p. 100) et nous répartissons les disques imprégnés de la façon suivante : Les concentrations 40 p. 100, 4 p. 100, 1 p. 100 et 0,2 p. 100 dans une première boîte de Pétri et les concentrations 10 p. 100, 2 p. 100, 0,4 p. 100 et 0,1 p. 100 dans une seconde boîte de Pétri. Ces essais sont effectués en double exemplaire. Par la suite, nous ajustons les concentrations utilisées (supprimant celles qui n'entraînent aucun phénomène de bactériostase et y incluant l'antiseptique en solution pure (concentration 1, notée 0) lorsque les concentrations inférieures provoquent une surface d'inhibition inférieure à 300 mm).

Nous effectuons pour chaque concentration de chaque antiseptique et pour chaque germe 4 essais (deux séries de deux essais). Nous constatons que les résultats de deux essais d'une même série sont toujours identiques. Quand les résultats sont tous les quatre du même ordre (aux incertitudes de mesure prêts), la moyenne des diamètres d'inhibition est effectuée et la surface d'inhibition calculée (la surface du disque étant exclue). Quand les résultats sont sensiblement différents, (Delmotte et coll. (31) considèrent qu'avec cette méthode les essais sont peu reproductibles quant aux résultats), une nouvelle série de deux essais est effectuée et ses résultats enregistrés avec la série précédente dont elle confirme le résultat.

2°) Résultats - Interprétations

Les résultats obtenus (tableau I) et représentés sur les figures I, II, III, IV et V permettent de constater deux choses :

- D'une part, les différentes sensibilités des germes vis-à-vis d'un antiseptique,

. La chlorhexidine est remarquablement active sur Staphylococcus epidermidis alors que l'autre Gram +, Streptococcus faecalis est beaucoup moins sensible (faut-il le rapporter à la présence de sang dans le milieu Mueller-Hinton ?) ; L'Escherichia coli et le Pseudomonas aeruginosa ont une sensibilité comparable, alors que Proteus mirabilis est le plus sensible des Gram -.

. Aux sensibilités près, les résultats obtenus avec le Septisec sont comparables aux résultats obtenus avec la chlorhexidine : C'est Staphylococcus epidermidis qui est le plus sensible puis Proteus mirabilis, Streptococcus faecalis, Escherichia coli et Pseudomonas aeruginosa.

. Avec la P.V.P.I. c'est encore Staphylococcus epidermidis qui est le plus sensible, mais contrairement à la chlorhexidine et au Septisec, viennent dans l'ordre décroissant des sensibilités Escherichia coli, Streptococcus faecalis, Proteus mirabilis et enfin Pseudomonas aeruginosa qui est très peu sensible.

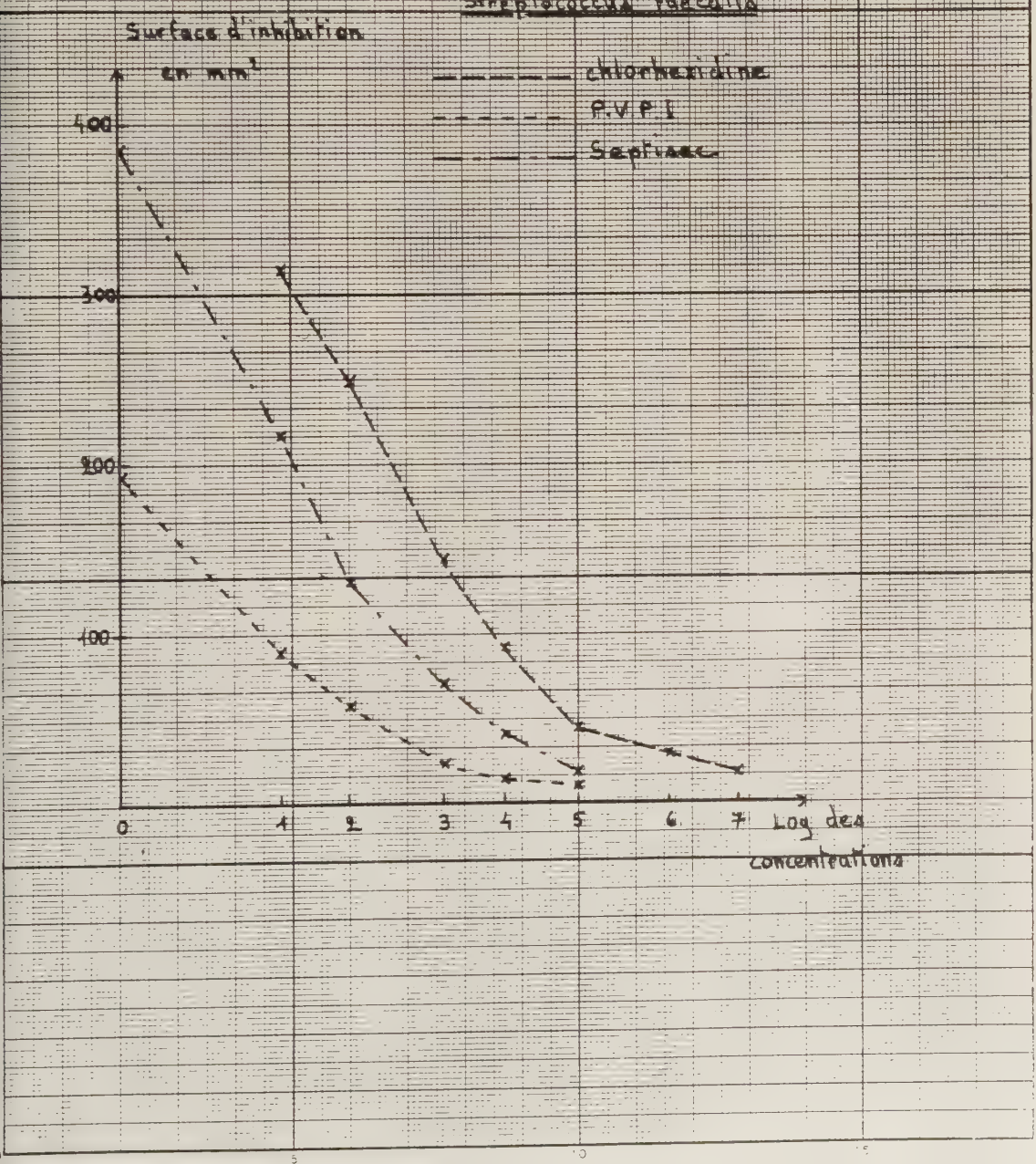
- D'autre part, pour un germe donné sa sensibilité aux différents antiseptiques dans les conditions expérimentales précédemment énoncées : dans tous les cas, c'est la chlorhexidine qui a l'action bactériostatique la plus efficace, puis le Septisec et la P.V.P.I..

Pour les deux Gram +, la chlorhexidine est nettement la plus efficace des trois antiseptiques et nous notons pour Staphylococcus epidermidis (graphique II) qu'à mesure que la concentration diminue, l'activité de la chlorhexidine reste bonne alors que celle du Septisec et de la P.V.P.I. diminue fortement : En effet, la chlorhexidine à 4 P. 1000

Tableau I : Estimation de l'activité bactériostatique, chiffre indiquant en mm la surface des zones d'inhibition (la surface du disque étant enlevée).

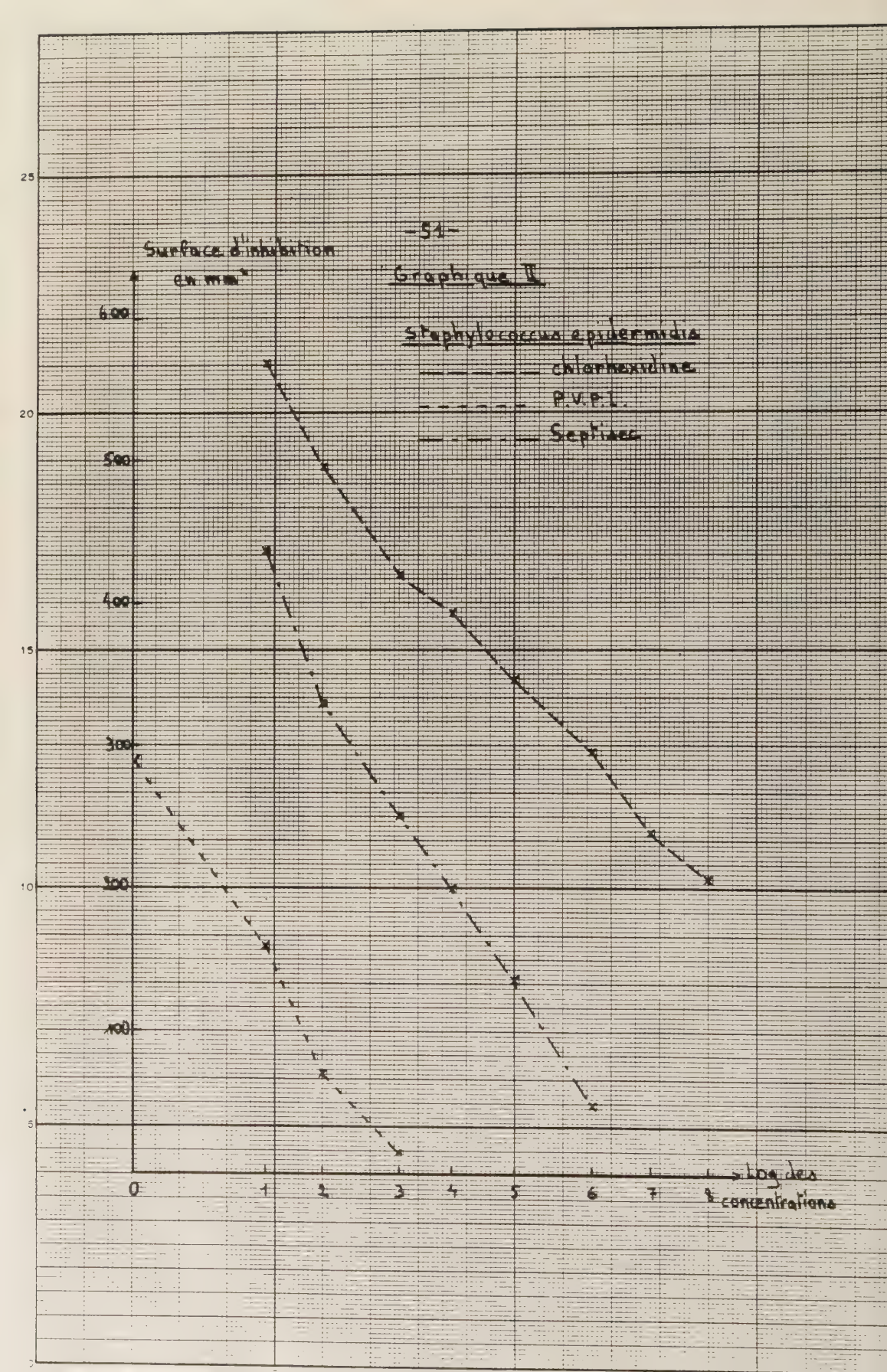
concentration		Streptococcus faecalis			Staphylococcus epidermidis			Escherichia coli			Proteus mirabilis			Pseudomonas aeruginosa		
		CHX	SEP	PVPI	CHX	SEP	PVPI	CHX	SEP	PVPI	CHX	SEP	PVPI	CHX	SEP	PVPI
1	0		384	194			290	382	346	221			168	346	235	56
0,4	1	313	215	89	570	438	161	207	145	53	384	355	62	258	137	34
0,1	2	250	130	56	497	330	71	158	87	30	314	253	34	207	92	17
0,04	3	143	71	24	419	250	17	121	59	11	253	188		161	60	
0,02	4	89	40	17	394	200		89	34		221	122		126	39	
0,01	5	45	17	11	347	135		71	17		183	65		94	17	
0,004	6	30			297	50		38			147	31		62		
0,002	7	17			240			24			121			42		
0,001	8				207						80					

Graphique I

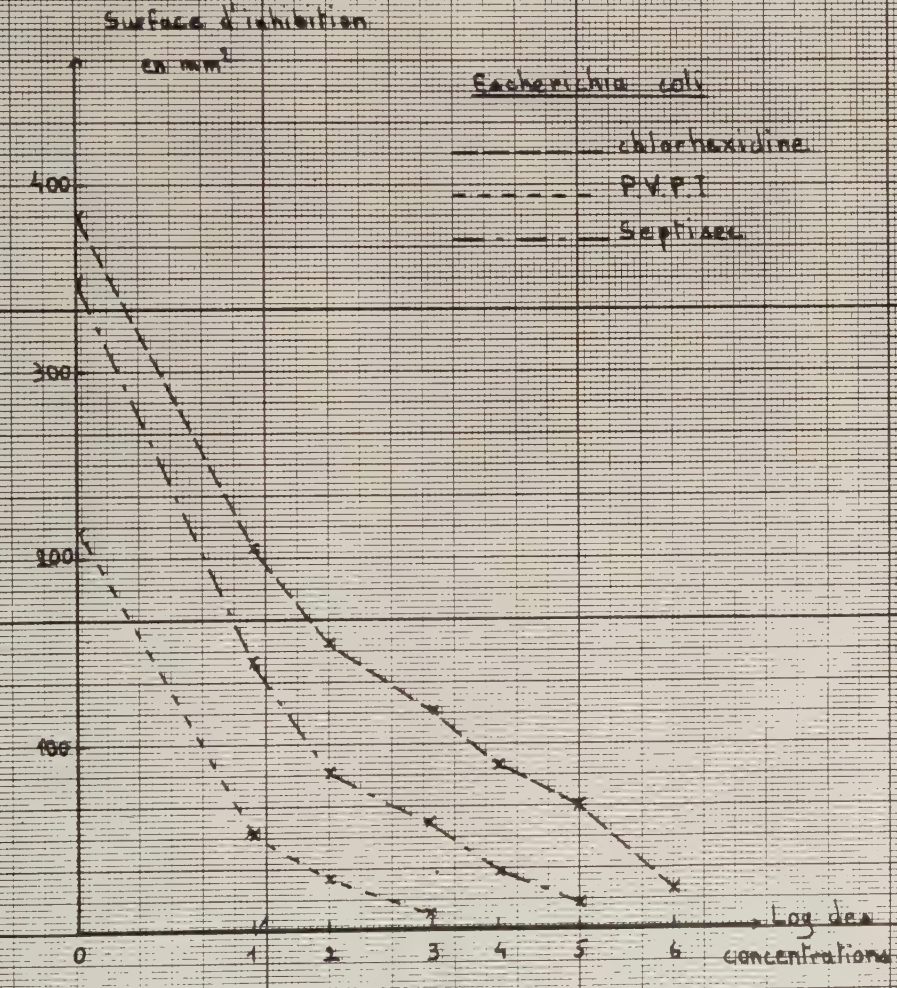


LES PAPIERS CANSON - FRANCE

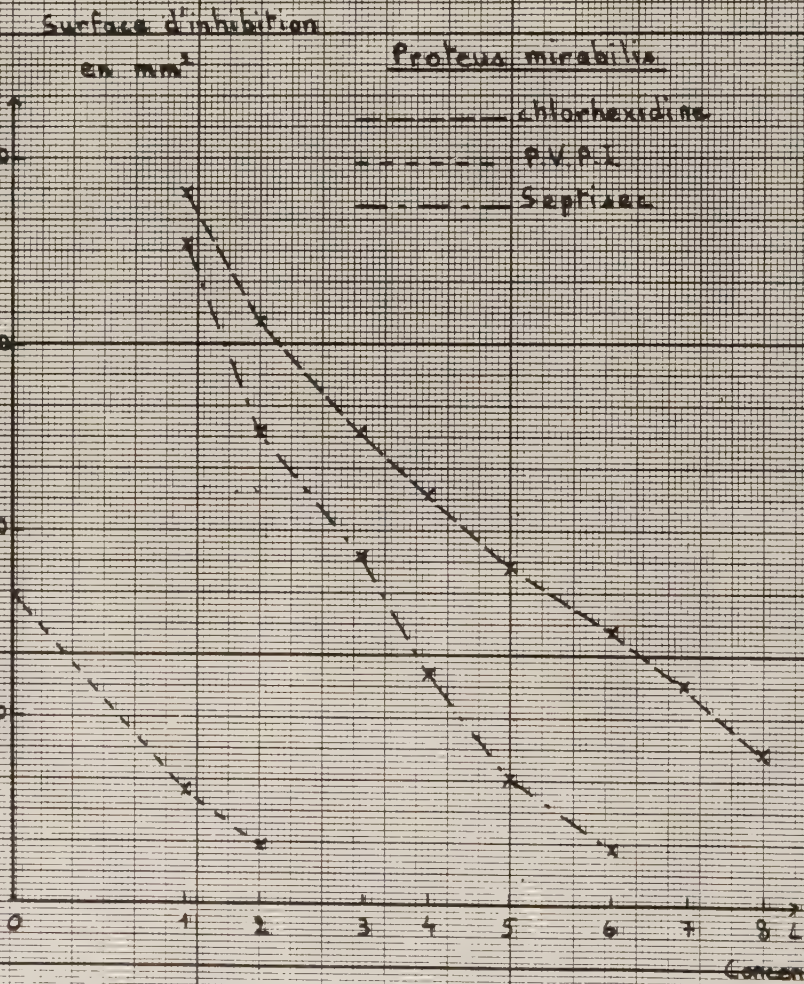
Graphique II



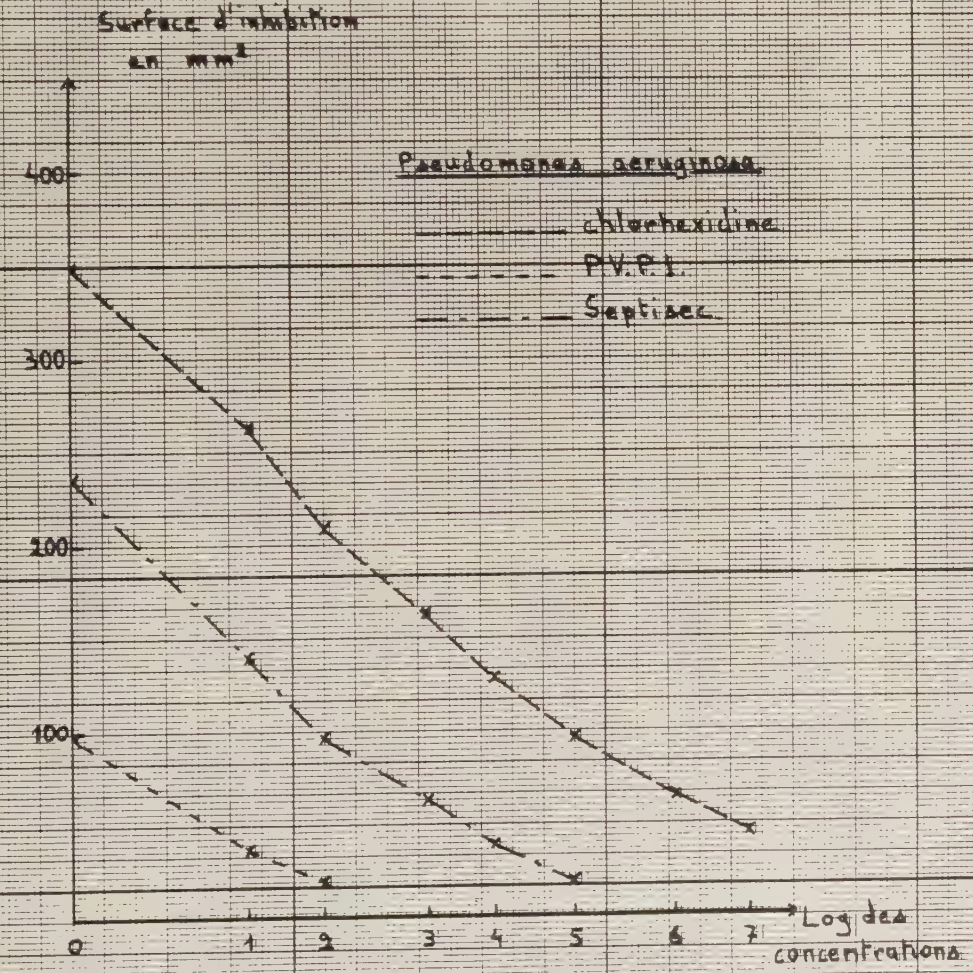
Graphique III



Graphique V


Surface d'inhibition en mm²
Proteus mirabilis
chlorhexidine
P.V.P.I
Septivet
400
300
200
100
0
1
2
3
4
5
6
7
8
Log des Concentrations

Graphique V



LES PAPIERS CANSON - FRANCE

est aussi efficace que la P.V.P.I. pure et que le Septisec à 6 ou 7 p. 100.

Pour Escherichia coli et Proteus mirabilis (graphique III et IV), la chlorhexidine est la plus efficace, mais le Septisec l'est à peine moins aux fortes concentrations car à mesure que la concentration en antiseptique diminue, l'efficacité du Septisec décroît plus vite que celle de la chlorhexidine.

Quant à Pseudomonas aeruginosa, qui est le germe le moins sensible des germes testés, s'il est quelque peu sensible à la chlorhexidine et au Septisec, il n'en va pas de même pour la P.V.P.I. qui a une action très réduite.

3°) Discussion

Les méthodes d'études de l'activité bactériostatique des antiseptiques sont de deux sortes (32) :

. Les méthodes de dilution en milieu liquide qui permettent d'obtenir directement les concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.) (elles consistent à introduire une certaine quantité d'antiseptique dans un tube qui contient le milieu de culture et à examiner après une période d'incubation déterminée s'il y a ou non développement) ;

. Les méthodes de diffusion en milieu solide qui consistent à faire diffuser un antiseptique dans un milieu de culture solide et à regarder après incubation s'il y a ou non développement.

Parmi ces différentes méthodes, nous avons choisi une méthode de diffusion en milieu solide (méthode des confettis de Bondi) car elle nous est apparue comme la plus simple et donc la plus commode à mettre en oeuvre pour des contrôles ultérieurs de sensibilité d'un germe à un antiseptique.

Il est cependant bon d'apporter quelques réserves à cette méthode, réserves qui peuvent diminuer la signification des résultats. En effet, le disque de buvard n'est pas un matériau totalement neutre : il ne se charge

pas de l'antiseptique et ne le rend pas de façon identique. Il est ainsi possible que la P.V.P.I. se trouve fortement absorbée par le papier buvard et que les zones d'inhibition s'en trouvent sensiblement diminuées. Pour éviter ce phénomène, il serait préférable de réaliser des cupules à l'emporte-pièce dans la gélose préalablement ensemencée et d'y déposer l'antiseptique à la concentration voulue. De plus, en raison des poids moléculaires différents des divers antiseptiques, la cinétique de leur diffusion dans la gélose n'est sûrement pas équivalente. Cependant le fait que les résultats obtenus après 48 h d'incubation sont les mêmes que ceux obtenus après 24 h d'incubation semble indiquer que 24 h sont suffisantes pour que la diffusion complète se réalise. Aussi la méthode consistant à codifier les résultats pour classer les souches en souches résistantes, limites, sensibles, très sensibles et les plus sensibles suivant la surface d'inhibition (31) ne nous a pas paru intéressante car si cette méthode peut servir à comparer les différentes sensibilités des germes vis-à-vis d'un antiseptique donné, elle ne peut, pour les raisons énoncées précédemment, servir à comparer l'activité de différents antiseptiques vis-à-vis d'un germe.

B) EXPLORATION DE LA BACTERICIDIE : METHODE DE FILTRATION SUR MEMBRANE

La méthode de filtration sur membrane fut utilisée pour étudier l'action des substances antiseptiques pour la première fois par Hirsch en 1950 (57). D'autres auteurs (52), (102) montrèrent la validité de la méthode pour déterminer l'activité bactéricide des substances antiseptiques. En 1975, le groupe Français des antiseptiques et l'association Française pour la normalisation (AFNOR) aboutirent à une méthode normalisée (1), méthode aussi fiable et reproductible que la méthode par dilution-neutralisation (2), (64).

1°) Matériel et méthode

a) Principe

La méthode comprend deux essais :

- L'essai préliminaire qui a pour objet de déterminer les conditions expérimentales du second essai ;

- L'essai proprement dit qui consiste à mettre en contact pendant 5 mn à 21°C ± 1°C les dilutions du produit à essayer avec 5 souches de référence et, après avoir éliminé l'antiseptique par lavage répété, à noter le nombre de survivants après les 5 mn de contact. L'effet bactéricide est affirmé à 10^{-5} survivants.

b) Matériel

- Les souches bactériennes : ce sont celles utilisées pour l'exploration de la bactériostase, c'est-à-dire deux Gram + (Streptococcus faecalis et Staplylococcus epidermidis) et trois Gram - (Escherichia coli, Proteus mirabilis et Pseudomonas aeruginosa).

- Appareillage de filtration : nous utilisons des appareils de filtration stérilisés avant chaque emploi et munis de membranes filtrantes de 0,45 µm de porosité, de 25 mm de diamétre en ester de cellulose. Sur ces appareils nous montons des seringues stériles de 60 ml de volume.

- Géloses de dénombrement : nous utilisons des milieux Mueller-Hinton

c) Méthode

- Essai préliminaire : nous repiquons les souches bactériennes deux fois à 24 h d'intervalle. Nous diluons ensuite les bouillons de culture afin d'obtenir des solutions contenant de 0,15 à 0,45 10^8 germes/ml. (Pour cela, à partir d'un bouillon de culture de chaque germe nous effectuons toute une série de dilutions que nous passons au turbidinométre : cela nous permet d'obtenir une droite aves les dilutions en abscisses et les résultats du turbidinométre en ordonnées; sur ces dilutions nous effectuons de nouvelles dilutions afin d'effectuer le comptage des colonies après ensemencement de géloses, ce qui nous permet par une simple régle de trois de connaître le nombre de germes contenus dans les premiéres dilutions et ainsi de savoir à quelle valeur donnée par le turbidinométre correspond la solution contenant de 0,15 à 0,45 10^8 germes/ml; il suffit ensuite, lors d'essais ultérieurs, de passer une dilution quelconque de la culture de germes au turbidinométre pour effectuer la dilution

adéquate qui nous permettra d'obtenir le nombre voulu de germes). Sur ces dernières solutions, des dilutions décimales sont effectuées jusqu'à 10^{-6} et un millilitre de cette solution est transférée dans un appareil de filtration stérile contenant 50 ml de diluant (eau distillée stérile).

Après filtration, la membrane est transposée sur une gélose de dénombrement. Cette opération, effectuée en double exemplaire, permet d'obtenir après incubation à 37°C le nombre N, résultat moyen du nombre de colonies obtenues.

D'autre part, un millilitre de solution antiseptique à la concentration la plus forte de celles que nous utiliserons est introduit dans un appareil de filtration contenant 50 ml de diluant ; après filtration, la membrane est transportée sur la gélose de dénombrement qui est mise en incubation. Cette opération, effectuée en double exemplaire, permet d'obtenir le nombre n.

Interprétation : Si $n \geqslant N$, les conditions expérimentales sont applicables à l'essai ;

Si $n \leqslant 0{,}8\ N$, la membrane filtrante garde une quantité suffisante de produit pour entraîner la bactériostase. Il faut alors augmenter le nombre de rinçage ou employer un neutralisant approprié.

- Essai proprement dit : La préparation des suspensions bactériennes et le dénombrement des bactéries sur membrane n'étant pas en contact avec l'antiseptique sont obtenus de la même façon que dans l'essai préliminaire ; Soit N le nombre obtenu.

Essai du produit et dénombrement des bactéries survivantes : Nous réalisons d'abord des dilutions de l'antiseptique à des concentrations doubles que celles que nous désirons utiliser. Nous répartissons 5 ml de chacune des dilutions dans 5 séries de tubes, nous complètons à 9 ml avec de l'eau distillée et nous plaçons ces tubes au bain-marie à 21°C $\pm$ 1°C.

Un millilitre de la suspension bactérienne est introduite dans un tube contenant l'antiseptique et le tube

est laissé 5 mn à 21°C ± 1°C ; nous prélevons un millilitre de cette solution qui est transféré dans un appareil de filtration contenant 50 ml de diluant. Nous filtrons, nous lavons la membrane suivant les conditions déterminées par l'essai préliminaire et nous transposons la membrane sur gélose pour le dénombrement.

Cet essai est effectué en double exemplaire ; nous procédons de la même façon pour chaque dilution à essayer, pour chaque antiseptique et pour chaque souche bactérienne. Après un temps d'incubation à 37°C (temps suffisant pour que les souches bactériennes soient visibles sur la gélose, généralement de l'ordre de 15 à 20 heures), les colonies apparues sont dénombrées et le nombre moyen X obtenu est noté.

Ensuite, pour chacune des souches et pour chacun des produits, la concentration minimale du produit pour laquelle X est inférieure ou égale à N est recherchée ; c'est cette concentration qui est retenue comme concentration bactéricide.

2°) Résultats

- Essai préliminaire

Nous avons utilisé les antiseptiques dilués au 1/500 ; dans tous les cas le lavage de la membrane avec trois fois 50 millilitres d'eau distillée stérile s'est avéré suffisant. Les conditions expérimentales précédemment décrites sont donc satisfaisantes.

- Essai proprement dit

Pour cet essai, nous utilisons les dilutions suivantes : 1/500, 1/1000, 1/2000, 1/4000, 1/8000, 1/16000 pour chaque antiseptique. Nous commençons systématiquement par tester les dilutions 1/1000, 1/2000 et 1/4000 et nous testons les autres dilutions en fonction des premiers résultats.

Nous considérons qu'une dilution est bactéricide quand par trois fois les tests ont été positifs pour la dilution au cours de trois ou quatre essais. Les résultats sont exprimés dans les deux tableaux ci-contre : le premier

(tableau II) note un + lorsque le test a reconnu l'antiseptique bactéricide et un - lorsqu'il ne l'est pas ; le deuxième (tableau III) fait la synthèse des résultats.

Tableau II (pH eau distillée 5, 8-6)

		Strept. faecalis	Staph. epidermidis	Esch. coli	Proteus mirabilis	Pseud. aeruginosa
	Série dilution	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
CHLORHEXIDINE	1/ 1000	+	+	+	+	+
	1/ 2000	+	+	+ + +	+ + +	+ + +
	1/ 4000	+ + +	+ + + +	- - -	- + - -	- - -
	1/ 8000	- -	+ - -		-	
	1/16000		-			
SEPTISEC	1/ 1000	+	+	+	+	+ + +
	1/ 2000	+ + +	+ +	+ + +	+ + +	+ - - -
	1/ 4000	- - -	- + + +	- - -	+ - - -	- -
	1/ 8000		- -		-	
P. V. P. I.	1/ 500					+
	1/ 1000	+ + +	+	+	+	+ + +
	1/ 2000	+ - + +	+ + +	+ + +	+ + +	- - -
	1/ 4000	- -	- - + -	- - -	+ - - -	-
	1/ 8000		-		-	

Tableau III : résume le tableau II en exprimant les concentrations bactéricides.

	Strept. faecalis	Staph. epidermidis	Esch. coli	Proteus mirabilis	Pseud. aeruginosa
Chlorhéxidine	1/ 4000	1/ 4000	1/ 2000	1/ 2000	1/ 2000
Septisec	1/ 2000	1/ 4000	1/ 2000	1/ 2000	1/ 1000
P.V.P.I.	1/ 2000	1/ 2000	1/ 2000	1/ 2000	1/ 1000

3°) Discussion

- De la méthode

Parmi les différentes méthodes d'exploration de la bactéricidie (recherche de la concentration minimale bactéricide (39), numération des survivants après neutralisation de l'antiseptique (53), méthode de dilution-neutralisation (2), (23), méthode de filtration sur membrane) nous avons tout d'abord retenu les méthodes de dilution-neutralisation et de filtration sur membrane car elles sont parfaitement codifiées (1), (2). Comme Crémieux (23) affirme que l'utilisation de ces deux méthodes donne avec les mêmes souches bactériennes et les mêmes antiseptiques des résultats comparables, nous avons retenu la filtration sur membrane car elle était la plus aisément réalisable avec le matériel dont nous disposions.

A l'usage cette méthode, malgré les contraintes et les nombreuses manipulations qu'elle nécessite, nous est apparue satisfaisante car les trois antiseptiques sont traités de la même façon et car les résultats obtenus dans les conditions expérimentales ne sont pas aléatoires.

- Des résultats

La première remarque à faire consiste à noter que

les résultats, obtenus lors des tests de bactéricidie, prolongent et confirment ceux obtenus lors des tests de bactériostase.

Parmi les trois antiseptiques testés, c'est la chlorhexidine qui se révèle être la plus efficace aussi bien sur les Gram + (1/4000) que sur les Gram - (1/2000). Le Septisec quant à lui, a une bonne action sur les Gram + (1/4000 pour Staphylococcus epidermidis, 1/2000 pour Streptococcus faecalis) et sur les Gram - (1/2000 pour Escherichia coli et Proteus mirabilis, 1/1000 pour Pseudomonas aeruginosa). La P.V.P.I. semble le moins actif des trois antiseptiques vis à vis desGram + (1/2000), mais les résultats obtenus avec les Gram - sont comparables à ceux obtenus avec le Septisec.

Pour avoir une comparaison plus fine entre les antiseptiques, il conviendrait d'utiliser des dilutions beaucoup plus proches les unes des autres et de connaître exactement quelle est l'influence des paramètres intervenant dans les conditions expérimentales, notamment l'influence du pH (5,8-6) qui convient parfaitement à la chlorhexidine et au Septisec, mais dessert la P.V.P.I. dont l'activité est meilleure à des pH plus faibles de l'ordre de 4 à 5 (117).

C O N C L U S I O N

Dans ce travail, nous avons comparé l'activité bactériostatique et bactéricide de trois antiseptiques (un acide aminé amphotère, la chlorhexidine et la polyvinylpyrrolidone iodée) vis-à-vis de cinq germes. Dans les conditions expérimentales décrites aussi bien dans les tests de bactériostase et de bactéricidie, c'est la chlorhexidine qui s'est révélée être le meilleur des trois antiseptiques, puis le Septisec et la P.V.P.I.. Les dilutions optimales auxquelles il faut utiliser les trois antiseptiques étudiés étant de 1/2000 pour la chlorhexidine et de 1/1000 pour le Septisec et la P.V.P.I.. Cela montre à l'évidence que les germes n'ont pas tous la même sensibilité aux antiseptiques et que si le praticien dispose d'une vaste gamme d'antiseptiques, il doit en moduler l'utilisation (tout comme il module l'utilisation des antibiotiques) en fonction du type de lésion à traiter et des germes à détruire (90). C'est à ces conditions que l'antisepsie, qui n'est ni une thérapeutique de facilité ni une thérapeutique facile se montre fiable et efficace.

Vu : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

rapporteur,

Professeur R. LAUTIE

Vu : Le Président de la Thèse

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 10.12.1981
L'Administrateur provisoire de
L'Université Paul Sabatier

Professeur : Mme ENJALBERT

Professeur : D. BANCEL

B I B L I O G R A P H I E

1 AFNOR 1977 - Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide (méthode par filtration sur membrane). Norme Française T 72-151

2 AFNOR 1977 - Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau. Détermination de l'activité bactéricide (méthode par dilution-neutralisation). Norme Française T 72-150.

3 BEAN H.S. - Types and characteristics of desinfectants J. Appl. Bact., 1967, 30, 1, 6-16.

4 BEEUWKES H. - Het gebruik van chloorhexidine. Neder. Tijdschr. Geneesk., 1958, 102, 522.

5 BELIN G., SANCHIS K. et MICHELBRIAND Y. - La chlorhexidine : efficacité antibactérienne dans les problèmes médicaux chirurgicaux pratiques. Journal Medecine de Besançon, 1974, 10, 3, 167-182.

6 BENTLEY P., DAVIES A., FIELD B.S. et ROBERTS W. - Characteristics of growth of a Pseudomonas species in culture media containing chlorhexidine. Bloch. J., 110, 4, 46 P.

7 BERCHE P., GLINASSIA J-C et VERON M. - Etude in vitro et application clinique d'une solution antiseptique à base de polyvinylpyrrolidone iodée. Path. Biol., 1973, 21, 883-888.

8 BLATT R. et MALONEY J.V. - An evaluation of the iodophor compounds as surgical germicide. Surg. Gynecol. Obstret., 1961, 113, 699-704.

9 BOGASH R.C. - Polyvinylpyrrolidone iodine : a three years observation of a new topical germicide. Bull. Am. Soc. Hosp. Pharm. 1956, 13.

10 BORY J. et LEMOAN G. - Les antiseptiques. Gaz. Med. Fr., 1970, 77, 8, 1797-1808 et 1970, 9, 2049-2052.

1

11 BOUCHET Jean - Contribution à l'étude de l'activité désinfectante d'une amine amphotère sur Brucella. Thèse médecine vétérinaire de Toulouse 1964.

12 BOUSSOUGANT Y. - Les antiseptiques. Ency. Med. Chir. Paris Thérapeutique 11-1976, 25012 F-12.

13 BURDON D.W. et WHITBY J.L. - Contamination of hospital desinfectants with Pseudomonas species. Br. Med. J., 1967, 2, 153-155.

14 CALMAN R.M. et MURRAY J. - Antiseptics in midwifery. Brit. Med. J. 1956, 2, 200.

15 CALVARIN et GAYOT G. - Action de divers antiseptiques sur le virus aphteux. Rec. Med. Vet. 1978, 154, 49-52.

16 CARUEL J-F et ROUSSELOT L.M. - Povidone iodée : extensive surgical evaluation of a new antiseptic agent. Am. J. Surg., 1964, 108, 849-855.

17 CHANAL M., CLUZEL M., JOLY B. et CLUZEL R. - Activité bactéricide de dérivés iodés in vitro et in vivo sur la peau saine. Med. Mal. Inf., 1976, 6, 11, 451-458.

18 CHANAL M., MORIN B., JOLY B. et CLUZEL R. - Activité bactéricide de la chlorhexidine sur la peau de sujets sains et de malades hospitalisés. Revue de L'Institut Pasteur de Lyon. 1978, 11, 3, 503-511.

19 CLUZEL R., JOLY B., CLUZEL M. et SIROT J. - Evaluation de l'activité bactéricide d'un antiseptique par la méthode de filtration sur membrane. Path. Biol., 1973, 21, 8, 861-869.

20 CRAMER G. - Uber des Häftvermögen von Ampholytseifen an der Oberflächen fester Körper. Fetter-Seifen-Anstrichmittel. 1958, 60, 35.

21 CREMIEUX A. et Coll. - Problèmes posés par le contrôle d'activité des bactéricides utilisées en hygiène hospitalière. Med. Mal. Inf. 1973, 3, 11, 413-420.

22 CREMIEUX A., CHEVALIER J., DAURIAC H. et DUMENIL G. - Evolution de la concentration bactéricide de désinfectants en fonction de la présence de diverses substances interférentes. Rev. Inst. Pasteur de Lyon. 1978, 8, 3, 187-197.

23 CREMIEUX A. - Les méthodes d'étude in vitro des antiseptiques et désinfectants : méthode par dilution-neutralisation, évaluation et critique. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon. 1978, 11, 3, 433-444.

24 CREMIEUX A., GUIRAUD-DAURIAC H., CAZAC J.L., PLUMELLE Y. et DUMENIL G. - Etude comparative de l'activité antimicrobienne de plusieurs antiseptiques en deux sites cutanés. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon. 1978, 11, 3, 523-533.

25 CREMIEUX A. - Antiseptiques et désinfectants : phénol et dérivés ; métaux lourds ; salicylanide et carbanilide. Revue du Praticien, 1980, 30, 33, 2185-2195.

26 CRISTOL D. - Historique et définitions de l'antisepsie et de la désinfection. Revue du Praticien, 1980, 30, 33 2159-2165.

27 DAVIES A., BENTLEY M. et FIELD B.S. - Comparaison of the action of Vantocil, Cetrimide and Chlorhexidine on Escherichia coli and its spheroblasts and the protoplasts of Gram positive bacteria. J. Apll. Bact. 1968, 31, 448-461.

28 DAVIES A. et FIELD B.S. - Action of biguanides, phénols and détergents on Escherichia coli and its spheroplasts. J. Appl. Bact. 1969, 32, 233-243.

29 DAVIES G. E. et Coll. - Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. Brit. J. Pharmacol., 1954. 9, 192.

30 DE KNECHT, VAN EEKELEN A. et VAN DER MEULEN H.C. - Subchronic (90 days) toxicity study with Ampholyt 15 DL in albino rats. Rapport R-3052 de l'Institut central de la nutrition et de l'alimentation. 1969.

31 DELMOTTE A., BEUMER J., COTTON E., DEKEYSER-DELMOTTE N., MILLET M., ABBEELE K.G., VON GRUNINGEN W., YOURASSOWKY E., - Etude de la sensibilité du bacille pyocyanique aux antiseptiques et aux antibiotiques :
1) Variation de la sensibilité du bacille pyocyanique aux antiseptiques et aux antibiotiques au cours du temps et reproductibilité des résultats. Thérapie, 1971, 26, 629-644.
2) De la notion statistique de la sensibilité du bacille pyocyanique aux antiseptiques à la conception de l'antiseptogramme. Thérapie, 1971, 26, 645-654.

32 DESBORDES J., JOURDAN R. - Recherche des meilleurs tests de bactéricidie dans la sélection ou le contrôle des substances antiseptiques pures et des préparations commerciales. Path. Biol., 1973, 21, 837-844.

33 DESBORDES J., JOURDAN R. - Antiseptiques iodés. Société française de microbiologie, groupe "Antiseptiques". Lyon, Avril 1976.

34 DULONG DE ROSNAY CH. et FOURTILLAN J.B. - Antiseptiques et antisepsie. Documentation des laboratoires Sarget.1974.

35 DUVAL J. - Activité bactéricide des principales familles antiseptiques. Synthèse des résultats obtenus par le groupe "Antiseptiques". Revue de l'Institut Pasteur de Lyon. 1978, 11, 3, 457-468.

36 DUVAL J. - Antiseptiques et désinfectants : définitions, méthodes d'étude et remarques générales. Revue du praticien 1980, 30, 33, 2229-2233.

37 ENJALBERT L. - Les désinfectants : matières et surfaces inertes. Rev. Med. Toul., 1979, 15, 231-239.

38 ENJALBERT L. -Antiseptiques et désinfectants : acides, alcools, aldehydes. Revue du praticien. 1980, 30, 33, 2213-2222

39 FLEURETTE J., TRANSY M., FLANDROIS J.P., BRUN Y., LAURAS F. - Evaluation de l'activité du benzalkonium au moyen d'un ensemenceur à sites multiples. Path. Biol., 1973, 21, 8, 845-850.

40 FLEURETTE J., TRANSY M.J. - Action d'un antiseptique sur la flore microbienne cutanée dans différentes conditions. Ann. Biol. Clin., 1976, 34, 203-210.

41 FLEURETTE J. - Méthode d'étude in vitro et classification des antiseptiques et désinfectants. Revue du Praticien, 1980, 30, 33, 2167-2181.

42 FRANK L. - Povidone iodine shampoo for seborrheix dermatitis and pyodermis. N.Y. State J. Med., 1959, 9, 2892-2894.

43 FRANK L. - The effect of povidone iodine on cutaneaous infections and the flore of skin. Cur. Ther. Res., 1961, 3, 535-538.

44 FRICH A.W., DAVIES G.H. et KRIPPAEHNE W. - Skin demerging agents with special reference to a new cationic iodophore. Surg. Gyn. Obstr., 1958, 197, 442.

45 CARNES A.L., DAVIDSON E., TAYLOR L.E., FELIX A.J., SHIDLOWSKY B.A. et PRICOT A. - Chemical evaluation of povidone iodine aerosel spray in surgical practice. Am. J. Surg., 1957, 94, 938.

46 GAYOT G. et URSACHE R. - Etude du pouvoir bactéricide de quelques désinfectants usuels. Rec. Med. Vet., 1976, 152, 299-304.

47 GENDUEL G. - Les antiseptiques et l'antisepsie en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Lyon 1980.

48 GERSHENFELD L. - Povidone iodine as a topical antiseptic. Amer. J. Surg., 1957, 94, 938-939.

49 GERSHENFELD L. - Povidone iodine (P.V.P.I.) as a vaginal microbicide. 1962, 134, 278-291.

50 GRAHAM P.A. - Clinical trial of chlorhexidine and diamino phenylsulfone in superficial ocular infections. Brit. J. Ophtal., 1960, 44, 761.

51 GRASSET J. et GAUTHIER R. - Experimentation clinique de la Bétadine pH en solution à la polyvinylpyrrolidone iodée en couche vaginale et en badigeonnage local. Inf. ther., 1970, 8, 28-34.

52 GREBUS C. et CREMIEUX A. -Etude du pouvoir bactéricide d'une solution antiseptique à propos d'une technique simple et démonstrative. Bull. Ass. Diplômés Microb. Fac. Pharm. Nancy. 1966, 101, 10-25.

53 GREBUS C., CREMIEUX A. et JACQUET-FRANCILLON. - Mise en évidence de l'activité bactéricide du chlorure de benzalkonium par numération des survivants après neutralisation des antiseptiques. Path. Biol. 1973, 21, 8, 851-860.

54 HALL R. - Pharmaceutical medical applications. Process. Bioch 1967, 2, 11, 24-25.

55 L'HARIDAN R. et CERF O. - La désinfection et l'antisepsie : proposition d'un mode de raisonnement tenant compte des cinétiques d'inactivation des microorganismes. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon ; 1978, 11, 3, 445-456.

56 HAROLD F.M., BAARDA J.R., BARON C. et ABRAMS A. - Dio 9 and chlorhexidine : inhibitors of membrane bound ATPase and of cation transport in Streptococcus faecalis. Biochm. Biophys. Acta., 1969, 183, 129-136.

57 HIRSCH J. - Zür Prüfung und Praxis der chirurgisher Hande-desinfection. Schw. Med. Wochr., 1950, 48, 1285-1291.

58 HUGO W.B. et LONGWORTH A.R. - Some aspects of the mode of action of chlorhexidine. J. Pharm. Pharmacol., 1964, 16, 655-662.

59 HUGO W.B. et LONGWORTH A.R. - Effects of chlorhexidine diacetate on protoplasts and spheroplasts of Escherichia coli, protoplasts of Bacillus megaterium, and the gram staining reaction of Staphylococcus aureus. J. Pharm. Pharmacol. 1964, 16, 751-752.

60 HUGO W.B. et LONGWORTH A.R. - Cytological aspects of action of chlorhexidine diacetate. J. Pharm. Pharmacol. 1965, 17, 28-32.

61 HUGO W.B. et LONGWORTH A.R. - The effect of chlorhexidine on the electrophoretic mobility, cytoplasmic constituants, deshydrogenase activity and cell walls of Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J. Pharm. Pharmacol., 1966, 18, 569-578.

62 HUGO W.B. - Inhibition and destruction of the microbial cell. Academic Press London and New-York 1971.

63 HUISMANS J.W. et DE GROOT A.P. - Acute toxicity studies with Ampholyt 15 DL applied topically to the skin and the eyes of albino rabbits. Rapport R.2846 de l'Institut central de la nutrition et de l'alimentation, 1969.

64 JOLY B., CHANAL M. et CLUZEL R. - Les méthodes d'études in vitro des antiseptiques et désinfectants : méthode par filtration sur membrane, évaluation et critique. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, 1978, 11, 3, 425-432.

65 JOLY B. et CLUZEL R. - Antiseptiques et désinfectants : ammoniums quaternaires , halogènes ; oxydants. Revue du Praticien, 1980, 30, 33, 2199-2208.

66 JOURDAN R. - Contrôle de l'activité antibactérienne des antiseptiques et des désinfectants. Thes. Med. Montpellier 1972.

67 KELSEY J.C. - Desinfectants and methods of testing. J. Med. Lab. Technol., 1969, 26, 79-89.

68 KOWATS J. - Les amphotensides dans la pratique vétérinaire. Communication au XVIII colloque international de l'hygiène à Essen le 06 Octobre 1972.

69 LAMBIN S. - Les substances chimiques antiseptiques : état actuel de la question. Prod. Pharm., 1963, 18, 107-124.

70 LAMBIN S., DESVIGNES A. et LELUAN G. - Application de la technique de filtration sur membrane à l'activité bactéricide partielle et totale de quelques substances à l'égard de Pseudomonas aeruginosa. Ann. Pharm. Franç., 1972, 30, 4, 255-262.

71 LAWRENCE C.A. - Antimicrobial activity in vitro of chlorhexidine. J. Amer. Pharm. Ass., 1960, 49, 11, 731-734.

72 LENDLE L. - Zusammenfassen der Bericht Uber die Tierexperimentellen Untersuchung des toxicogischen Wirkung von Tego 51.
Travail de l'Institut pharmacologique de l'Université de Göttingen, 1954.

73 LICKEFELD K.G. - Recherche comparative sur les actions bactériostatiques et bactéricides de quelques composés chimiques sur Pseudomonas aeruginosa, en particulier du point de vue de l'image équivalente en microscopie électronique. Arch. Hyg. Bakteriol. Dtsch. 1968, 62, 72, 107-118 et 457-467. 152.

74 LILLY H.A. et LOWBURY E.J.L. - Desinfection of the skin : an assement of some new preparations. Brit. Med. J., 1971, 3, 674.

75 LINDER T. - La désinfection des locaux d'élevage. Information Technique des directions des Services Vétérinaires, 1971, 33, 49,60.

76 LOWBURY E.J.L., LILLY H.A. et BULL J.P. - Disinfection of the skin of operation sites. Brit. Med. J., 1960, 2, 1039.

77 LOWBURY E.J.L., LILLY H.A. et BULL J.P. - Disinfection of hands : removal of transcent organisms. Brit. Med. J., 1964, 2, 230.

78 LOWBURY E.J.L., LILLY H.A. et BULL J.P. - Methods of disinfection of hands and operated sites. Brit. Med. J., 1964, 2, 531.

79 LOWBURY E.J.L. et LILLY H.A. - Use of 4 p. 100 chlorhexidine detergent solution (hibiscrub) and other methods of skin disinfection. Brit. Med. J., 1973, 1, 510-515.

80 LONGWORTH R.A. - Chlorhexidine in : Inhibition and destruction of the microbial cell. Ed. Hugo W.B. : Academic Press London, 1971, 95-106.

81 LUBSEN N., BOISSVAIN W. et FASS H. - Chlorhexidine as the probable cause of increase in Proteus rettgeri infections of the urinary tract. Lancet, 1961, 1,921.

82 LUCAM F., DANNACHER G. et FEDIDA M. - Action in vitro de suelques désinfectants sur le virus aphteux de culture. Bull. Off. Int. Epiz., 1964, 61, 1589-1603.

83 MARTIN A.R. - A technique of studying the action of antiseptics on bacteria in subcutaneaous tissues with special reference to chlorhexidine. J. Clin. Path. 1959, 12, 48.

84 MITCHELL J.A. - The bactericidal activity at 100°C of some ophtalmic vehicles. Aust. J. Pharm., 1962, 43, 1139-1143.

85 MOUTOUSSES M.D. - Rapport sur l'activité germicide de Tego 51, Tego 103, TSGO 51B sur quelques microorganismes pathogènes et non pathogènes. Travail du département de microbiologie de l'université d'Athènes.

86 MYERS G.E., MACKENSIE W.C. et WARD K.M. - The effect of a new antiseptic (1-6-DI-4'-chlorophenyldiguanidohexane) on skin flora. Canad. J. Microbiol., 1956, 2, 87.

87 OUDAR J. et coll. - Emploi d'un nouveau désinfectant dans l'hygiène de la production laitière. Bulletin société vétérinaire de France, Janvier 1972.

88 OUDAR J. et WILLEMUR J.P. - Etude d'un désinfectant amphotère. Mars 1972, 135-150.

89 PATTERSON A.M. - Meaning of "Antiseptic", "désinfectant" and related words. Am. J. Public. Health., 1932, 22, 465-472.

90 PRAVE M. et RICHARD Y. - Les antiseptiques : désinfectants et désinfections. Cours polycopié Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon. 1978/79.

91 PUJOL M., MOREL C. et FREYMUTH F. - Action de divers antiseptiques sur quelques bactéries hospitalières ; Med. Mal. Infect., 1972, 2, 3, 105-106.

92 RABINOVITZ M.Z. - Clinical evaluation of povidone iodine as a skin antiseptic in orthopedic surgery. J. New. Drugs, 1961, 1, 39-42.

3 REBER H. - Désinfection : définition et exigence. Rapport de la Société Française de Microbiologie. Institut Pasteur Paris, 7-12, 1972.

94 REBER H., FLEURY C., GASCHEN M., HESS E., REGAMEY R., RITTER P., TANNER F., VISCHER W. - Evaluation et contrôle des désinfectants. Société Suisse de microbiologie, Juin 1972.

95 REDDISH G.F. - Abtiseptics, disinfectants and sterilisation. 2 Ed. 1957.

96 REYBROUCK G. et VAN DE VOORDE H. - Etude comparative sur les propriétés bactéricides d'antiseptiques destinés à la désinfection chirurgicale des mains. Med. Mal. Infect., 1975, 5, 7, 385-390.

97 RYE R.M. et WISEMAN D. - Release of Phosphorus 32, containing compounds from micrococcus lysodeikticus treated with chlorhexidine. J. Pharm. Pharmacol., 1964, 16, 516-521.

98 RYE R.M. et WISEMAN D. - Chemical fractionation of Phosphorus 32 labelled cells of Micrococcus lysodeikticus treated with chlorhexidine . J. Pharm. Pharmacol., 1965, 17, 295-301.

99 SAINCLIVER M., KERHERVE L. - Essais d'efficacité des détergents-désinfectants combinés ampholyte Tego et Tego 51B. Travail du laboratoire de recherches de technologie laitière de Rennes, 1965.

100 SALTON M.R.J. - The action of lytic agent on the surface structures of the bacterial cell. Edit. Schulman J.H., 2nd Int.

101 SCHMITZ A. - Considération sur le développement futur des désinfectants tensio-actifs. Documentation de la Société Goldschmitz.

102 SEBASTIEN F. - De l'utilisation des membranes filtrantes en microbiologie. Détermination de l'activité bactéricide des substances antiseptiques. Contrôle de stérilité. Thèse Université de Pharmacie de Paris 1963.

103 SHELANSKI H.M. et SHELANSKI M.V. - P.V.P.Iodine : history, toxicity and therapeutics uses. J. Int. Coll. Surg., 1956, 25, 727-734.

104 SIGGIA - The chemistry of P.V.P.I. J. Amer. Pharm. A., 1957, 46, 201.

105 SPICHER G. - Désinfectants et procédés de désinfection étudiés tout spècialement sous l'angle de facteurs susceptibles de modifier leur efficacité et leur valeur utilitaire. Path. Microbiol., 1976, 36, 259-276.

106 STORY P. - Testing of skin desinfectants. Brit. Med. J., 1952, 2, 1128-1130.

107 TRANSY M.J. , FLEURETTE J. et SURGOT M. - Etude comparative de l'activité antimicrobienne sur la peau et les mains de plusieurs antiseptiques. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, 1978, 11, 3, 513-522.

108 TRUEMANN J.R. - The halogens in : Inhibition and destruction of the microbial cell. Edit. Hugo W.B. Academic Press London N-Y, 1971.

109 VAN DER MEIREN et Coll. - La chlorhexidine en dermatologie. Arch. Belg. Derm. Syph., 1958, 14, 14.

110 VIALLER J. - Etude de l'activité bactéricide de la P.V.P. I. sur les mycobactéries. Lyon Médical, 1975, 234, 13, 93-98.

111 VIALLER J., COULLIOUD D. et CARRET G. - Activité bactéricide des antiseptiques et des désinfectants sur les mycobactéries. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, 1978, 11, 3, 535-542.

112 WAGENER K. - Desinfectionsversuch mit neuen Tego-präparation gegenüber Tuberkelbackterien und tuberkulösen Infektions stoffen. Die Fleischwirschaft, 11, Novembre 1954.

113 WATSON H.E. - A note on the variation of rate of desinfection with change in the concentration of the desinfectant. J. Hyg. Camb., 1908, 8, 534.

114 X - Hibitane (chlorhexidine). Documentation de la Société ICI-PHARMA.

115 XX - Septisec. Documentation des Laboratoires DISTRIVET.

116 XXX - Tego 51 : Documentation de la Société GOLDSCHMIDT.

117 XXXX - Vétédine-Bétadine : Documentation des Laboratoires SARGET.

==========

TABLE DES MATIERES

	Pages
- INTRODUCTION -	1
- PREMIERE PARTIE - GENERALITES SUR LES ANTISEPTIQUES	4
A) Définitions	5
1°) Désinfection - Antisepsie	5
2°) Désinfectant - Antiseptique	5
3°) Bactériostase - Bactéricidie	5
B) Classification des antiseptiques chimiques	6
I) Les composés phénoliques	6
II) Les agents tensio-actifs	7
III) Les alcools	9
IV) Les aldéhydes	9
V) Les acides	10
VI) Salicylanides et carbanilides	10
VII) Les composés oxydants	10
VIII) Les dérivés des métaux lourds	13
IX) Les colorants et les agents chélateurs	15
X) Divers	16
C) Facteurs d'activité et paramétres caractéristiques d'un agent chimique de désinfection	17
1°) Les variations du pH	17
2°) Influence de la concentration	18
3°) Influence de la température	18
4°) Influence des matières organiques	18
5°) La vitesse de réaction	19
6°) Influence de l'espèce bactérienne	19

Pages

7°) L'effet population 19

8°) Véhicule ou solvant 19

D) Précautions nécessaires à la conservation des antiseptiques 20

E) Qualités d'un antiseptique 21

- DEUXIEME PARTIE - ETUDE PARTICULIERE DE TROIS ANTISEPTIQUES : UN ACIDE AMINE AMPHOTERE, LA CHLORHEXIDINE ET LA POLYVINYLPYRROLIDONE IODEE 22

A) Un acide aminé amphotère : Le Septisec 23

1) Généralités 23

2) Propriétés physico-chimiques 23

3) Toxicité 23

4) Résistance 24

5) Mécanisme d'action 24

6) Activité in vitro du Septisec 25

7) Activité in vivo du Septisec 27

8) Facteurs influençant l'activité du Septisec 27

B) La Chlorhexidine

1°) Généralités 28

2°) Propriétés physiques 28

3°) Toxicité 28

4°) Résistance 30

5°) Mode d'action de la chlorhexidine 30

6°) Activité in vitro de la chlorhexidine 32

7°) Activité in vivo de la chlorhexidine 35

8°) Facteurs influençant l'activité de la chlorhéxidine 35

Pages

C) La Polyvinylpyrrolidone iodée : P.V.P.I. 37
1°) Généralités 37
2°) Propriétés de la P.V.P.I. 38
3°) Toxicité de la P.V.P.I. 40
4°) Mode d'action de la P.V.P.I. 41
5°) Activité in vitro de la P.V.P.I. 41
6°) Activité in vivo de la P.V.P.I. 43
7°) Facteurs influençant l'activité de la P.V.P.I. 44

- TROISIEME PARTIE - ETUDE IN VITRO DE L'ACTIVITE BACTERIOSTATIQUE ET BACTERICIDE D'UN ACIDE AMINE AMPHOTERE (LE SEPTISEC), DE LA CHLORHEXIDINE ET DE LA POLYVINYLPYRROLIDONE IODEE (P.V.P.I.). 45

A) Exploration de la bactériostase 46
1°) Matériel et méthode 46
2°) Résultats - Interprétation 48
3°) Discussion 55

B) Exploration de la bactéricidie 56
1°) Matériel et méthode 56
2°) Résultats 59
3°) Discussion 61

- CONCLUSION - 63

- BIBLIOGRAPHIE - 65